

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C. 20231  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing: 23 September 1999 (23.09.99)	
International application No.: PCT/EP99/01674	Applicant's or agent's file reference: 4894/00WO-Ts
International filing date: 15 March 1999 (15.03.99)	Priority date: 13 March 1998 (13.03.98)
Applicant: FREY, Bruno et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:  
07 July 1999 (07.07.99)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

Translation

0968326  
8000

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

3

Applicant's or agent's file reference 4894/00WO-Ts	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP99/01674	International filing date (day/month/year) 15 March 1999 (15.03.99)	Priority date (day/month/year) 13 March 1998 (13.03.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/54		
Applicant ROCHE DIAGNOSTICS GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 2 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☒ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 07 July 1999 (07.07.99)	Date of completion of this report 15 May 2000 (15.05.2000)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP99/01674

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☒ the international application as originally filed.
- ☐ the description, pages 1-33, as originally filed,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_, as originally filed,  
 Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 Nos. 1-16, filed with the letter of 13 April 2000 (13.04.2000),  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the drawings, sheets/fig 1-31, as originally filed,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/EP 99/01674

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-16	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-16	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-16	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

#### Relevant documents:

D1: WO-A-97/29209 (HARVARD COLLEGE), 14 August 1997  
D2: US-A-5 466 591 (GELFAND DAVID H ET AL.), 14 November 1995.

#### Novelty (PCT Article 33(2)):

The subject matter of Claims 1-16 can be acknowledged to have the requisite novelty over the aforementioned documents **D1** and **D2**.

Document **D1** describes the introduction of a thioredoxin binding site in E.coli DNA polymerase I, but not the exchange of exonuclease domains. **D1** does not describe any chimeras displaying polymerase activity and 3' exonuclease activity, wherein the domains which have this activity come from different polymerases.

**D2** already describes polymerase chimeras from Tma DNA polymerase and Taq DNA polymerase which, for example, have the 5' to 3' polymerase selectivity of Taq and the 3' to 5' exonuclease activity of Tma DNA polymerase (see column 14, paragraph 2). However, the chimeras described in **D2** do not

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/EP 99/01674

correspond essentially to the SEQ ID No: 8, 10 or 12, since, in contrast to **D2**, in the present application, cleavage does **not** occur between the two domains.

**Inventive step (PCT Article 33(3)):**

The subject matter of Claims 1-16 also involves an inventive step, since it could be shown unexpectedly that the claimed chimeras are more thermostable than the chimeras of **D2**, which are cleaved precisely between the domains (see Example 4 in the application).

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 99/01674

## VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The word "essentially", which has been added to Claims 1-3, is not sufficiently clear and, moreover, it is questionable whether this word is supported by the original description (objection under PCT Article 6).

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:																
ROCHE DIAGNOSTICS GMBH - Patentabteilung - D-68298 Mannheim ALLEMAGNE	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; text-align: center;">K</td> <td style="width: 100px;">Roche Diagnostics GmbH</td> <td style="width: 20px; text-align: center;">AB</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">JG</td> <td style="text-align: center;">Patentabteilung</td> <td style="text-align: center;">HIL</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">SI</td> <td style="text-align: center; font-size: 1.2em;">17. Mai 2000</td> <td style="text-align: center;">WN</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Kn</td> <td style="text-align: center;">Erl. <i>gal</i></td> <td style="text-align: center;">BA</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">P</td> <td style="text-align: center;">KÖ KL S SZ IM</td> <td style="text-align: center;">WB</td> </tr> </table>	K	Roche Diagnostics GmbH	AB	JG	Patentabteilung	HIL	SI	17. Mai 2000	WN	Kn	Erl. <i>gal</i>	BA	P	KÖ KL S SZ IM	WB
K	Roche Diagnostics GmbH	AB														
JG	Patentabteilung	HIL														
SI	17. Mai 2000	WN														
Kn	Erl. <i>gal</i>	BA														
P	KÖ KL S SZ IM	WB														
Absendedatum (Tag/Monat/Jahr) <span style="float: right; font-size: 1.2em;">15.05.00</span>																

## PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG  
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNGSBERICHTS  
(Regel 71.1 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>4894/00WO-Ts</b>	<b>WICHTIGE MITTEILUNG</b>
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP99/01674</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>15/03/1999</b>
Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>13/03/1998</b>	
Anmelder <b>ROCHE DIAGNOSTICS GMBH</b>	

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

#### 4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde

Europäisches Patentamt  
D-80298 München

Bevollmächtigter Bediensteter

Vullo, C



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>4894/00W0-Ts</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP 99/01674</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>15/03/1999</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>13/03/1998</b>
Anmelder  <b>ROCHE DIAGNOSTICS GMBH et al.</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 5 Blätter.



Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

#### 1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.



Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das



in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.



zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☒ **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3. ☐ **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

#### 4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

#### 5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. ////



wie vom Anmelder vorgeschlagen



keine der Abb.



weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.



weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



**Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)**

Gemäß Artikel 17(2)a wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
  
2. ☒ Ansprüche Nr. 17  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich  
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
  
3. ☐ Ansprüche Nr.  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

**Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)**

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
  
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
  
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
  
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

**Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs**

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 17

Im Sequenzprotokoll fehlen Angaben zu SEQ ID NO: 17. Deshalb konnte keine Recherche durchgeführt werden.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt.

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 C12N15/54 C12N9/12 C12N1/21 C12P19/34 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C12N C12P C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	EP 0 892 058 A (HOFFMANN LA ROCHE) 20. Januar 1999 (1999-01-20) das ganze Dokument ---	1-8, 10, 18-24
X	WO 97 29209 A (HARVARD COLLEGE) 14. August 1997 (1997-08-14) das ganze Dokument ---	1-10, 18-24
X	US 5 466 591 A (GELFAND DAVID H ET AL) 14. November 1995 (1995-11-14) Spalte 14 --- -/--	1-10, 18-24



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. August 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09.09.99

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hillenbrand, G

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	RUI SOUSA ET AL: "SINGLE CRYSTALS OF A CHIMERIC T7/T3 RNA POLYMERASE WITH T3 PROMOTER SPECIFICITY" JOURNAL OF CRYSTAL GROWTH, Bd. 122, Nr. 1 / 04, 2. August 1992 (1992-08-02), Seiten 366-374, XP000306506 ISSN: 0022-0248 das ganze Dokument ----	1,3,24
A	EP 0 482 714 A (EASTMAN KODAK CO) 29. April 1992 (1992-04-29) das ganze Dokument -----	1

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung: [ ] zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/01674

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 0892058	A	20-01-1999	CA	2240570 A	09-01-1999
WO 9729209	A	14-08-1997	KEINE		
US 5466591	A	14-11-1995	US	5079352 A	07-01-1992
			US	4889818 A	26-12-1989
			US	5322770 A	21-06-1994
			US	5795762 A	18-08-1998
			AT	181106 T	15-06-1999
			AU	691374 B	14-05-1998
			AU	4086896 A	26-04-1996
			AU	663474 B	12-10-1995
			AU	8668891 A	28-04-1992
			CA	2090614 A	29-03-1992
			DE	69131321 D	15-07-1999
			EP	0550687 A	14-07-1993
			EP	0894860 A	03-02-1999
			JP	10004985 A	13-01-1998
			JP	10004965 A	13-01-1998
			JP	10000095 A	06-01-1998
			JP	2709311 B	04-02-1998
			WO	9206200 A	16-04-1992
			US	5405774 A	11-04-1995
			US	5455170 A	03-10-1995
			US	5674738 A	07-10-1997
			AU	658378 B	13-04-1995
			AU	8907791 A	28-04-1992
			CA	2092317 A	29-03-1992
			EP	0550696 A	14-07-1993
			JP	2582980 B	19-02-1997
			JP	6504196 T	19-05-1994
			WO	9206202 A	16-04-1992
			US	5310652 A	10-05-1994
			US	5618703 A	08-04-1997
			US	5641864 A	24-06-1997
			US	5693517 A	02-12-1997
			US	5561058 A	01-10-1996
			AT	135741 T	15-04-1996
			AU	3062989 A	11-08-1989
			AU	632857 B	14-01-1993
			AU	6391090 A	10-01-1991
			DE	68926038 D	25-04-1996
			DE	68926038 T	17-10-1996
			EP	0395736 A	07-11-1990
			HK	166096 A	13-09-1996
			IE	72180 B	26-03-1997
			IL	88923 A	31-07-1995
			JP	2511548 B	26-06-1996
			JP	3502165 T	23-05-1991
			SG	46657 A	20-02-1998
			US	5407800 A	18-04-1995
			WO	8906691 A	27-07-1989
			US	5618711 A	08-04-1997
			US	5789224 A	04-08-1998
EP 0482714	A	29-04-1992	AT	136932 T	15-05-1996
			AU	8469091 A	07-05-1992
			CA	2052827 A	27-04-1992

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/01674

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0482714     A		CS     9103242 A	13-05-1992
		DE     69118809 D	23-05-1996
		DE     69118809 T	26-09-1996
		DK     482714 T	13-05-1996
		ES     2086479 T	01-07-1996
		JP     2032104 C	19-03-1996
		JP     5130871 A	28-05-1993
		JP     7059195 B	28-06-1995
		KR     9405592 B	21-06-1994
		SG     52453 A	28-09-1998
-----			

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/01674

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0892058	A	20-01-1999	CA 2240570 A	09-01-1999
WO 9729209	A	14-08-1997	NONE	
US 5466591	A	14-11-1995	US 5079352 A	07-01-1992
			US 4889818 A	26-12-1989
			US 5322770 A	21-06-1994
			US 5795762 A	18-08-1998
			AT 181106 T	15-06-1999
			AU 691374 B	14-05-1998
			AU 4086896 A	26-04-1996
			AU 663474 B	12-10-1995
			AU 8668891 A	28-04-1992
			CA 2090614 A	29-03-1992
			DE 69131321 D	15-07-1999
			EP 0550687 A	14-07-1993
			EP 0894860 A	03-02-1999
			JP 10004985 A	13-01-1998
			JP 10004965 A	13-01-1998
			JP 10000095 A	06-01-1998
			JP 2709311 B	04-02-1998
			WO 9206200 A	16-04-1992
			US 5405774 A	11-04-1995
			US 5455170 A	03-10-1995
			US 5674738 A	07-10-1997
			AU 658378 B	13-04-1995
			AU 8907791 A	28-04-1992
			CA 2092317 A	29-03-1992
			EP 0550696 A	14-07-1993
			JP 2582980 B	19-02-1997
			JP 6504196 T	19-05-1994
			WO 9206202 A	16-04-1992
			US 5310652 A	10-05-1994
			US 5618703 A	08-04-1997
			US 5641864 A	24-06-1997
			US 5693517 A	02-12-1997
			US 5561058 A	01-10-1996
			AT 135741 T	15-04-1996
			AU 3062989 A	11-08-1989
			AU 632857 B	14-01-1993
			AU 6391090 A	10-01-1991
			DE 68926038 D	25-04-1996
			DE 68926038 T	17-10-1996
			EP 0395736 A	07-11-1990
			HK 166096 A	13-09-1996
			IE 72180 B	26-03-1997
			IL 88923 A	31-07-1995
			JP 2511548 B	26-06-1996
			JP 3502165 T	23-05-1991
			SG 46657 A	20-02-1998
			US 5407800 A	18-04-1995
			WO 8906691 A	27-07-1989
			US 5618711 A	08-04-1997
			US 5789224 A	04-08-1998
EP 0482714	A	29-04-1992	AT 136932 T	15-05-1996
			AU 8469091 A	07-05-1992
			CA 2052827 A	27-04-1992

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/01674

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0482714 A		CS 9103242 A	13-05-1992
		DE 69118809 D	23-05-1996
		DE 69118809 T	26-09-1996
		DK 482714 T	13-05-1996
		ES 2086479 T	01-07-1996
		JP 2032104 C	19-03-1996
		JP 5130871 A	28-05-1993
		JP 7059195 B	28-06-1995
		KR 9405592 B	21-06-1994
		SG 52453 A	28-09-1998
<hr/>			



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 4894/00WO-Ts	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/01674	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 15/03/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 13/03/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/54		
Anmelder ROCHE DIAGNOSTICS GMBH		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
- ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).
- Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☒ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  07/07/1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  15. 05. 00
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Beauftragter  Hillenbrand, G  Tel. Nr. +49 89 2399 8428 

**I. Grundlage des Berichts**

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

**Beschreibung, Seiten:**

1-33                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-16                      eingegangen am                      14/04/2000    mit Schreiben vom                      13/04/2000

**Zeichnungen, Blätter:**

1-31                      ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,                      Seiten:
- ☐ Ansprüche,                      Nr.:
- ☐ Zeichnungen,                      Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**1. Feststellung**

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-16
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-16
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-16
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen

**siehe Beiblatt**

**VI. Bestimmte angeführte Unterlagen**

1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

und / oder

2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)

**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

**siehe Beiblatt**

**Relevante Dokumente:**

- D1: WO 97 29209 A (HARVARD COLLEGE) 14. August 1997  
D2: US-A-5 466 591 (GELFAND DAVID H ET AL) 14. November 1995

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**Neuheit (Artikel 33.2 PCT):**

Im Hinblick auf die oben genannten Dokumente **D1-D2** kann dem Gegenstand der Ansprüche 1-16 die erforderliche Neuheit zuerkannt werden.

Das Dokument **D1** beschreibt das Einbringen einer Thioredoxin Bindestelle in E.coli DNA Polymerase I, jedoch kein Austauschen von Exonuklease Domänen. **D1** beschreibt keine Chimären, die Polymeraseaktivität und 3'-Exonukleaseaktivität aufweisen, wobei die Domänen, die diese Aktivität aufweisen aus unterschiedlichen Polymerasen stammen.

**D2** beschreibt bereits Polymerasechimäre aus Tma-DNA Polymerase und Taq-DNA Polymerase, die z.B. die 5'-3'-Polymeraseaktivität von Taq und die 3'-5'-Exonukleaseaktivität von Tma-DNA Polymerase aufweisen (siehe Spalte 14, Absatz 2). Die in **D2** beschriebenen Chimären entsprechen jedoch nicht im wesentlichen der SEQ ID NO: 8, 10 oder 12, da im Gegensatz zu **D2** in der vorliegenden Anmeldung der Schnitt **nicht** zwischen den beiden Domänen gesetzt wurde.

**Erfinderische Tätigkeit (Artikel 33.3 PCT):**

Der Gegenstand der Ansprüche 1-16 verfügt auch über die erforderliche erfinderische Tätigkeit da überraschenderweise gezeigt werden konnte, daß die

beanspruchten Chimären thermostabiler sind als die Chimären von **D2**, bei denen genau zwischen den Domänen geschnitten wurde (siehe das Beispiel 4 in der Anmeldung).

**Zu Punkt VI**

Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

Anmelde Nr. Patent Nr.	Veröffentlichungsdatum (Tag/Monat/Jahr)	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	Prioritätsdatum (zu Recht beansprucht) (Tag/Monat/Jahr)
EP0 892058	20.01.1999	03.07.1998	09.07.1997

**Zu Punkt VIII**

**Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Der nunmehr verwendete neue Ausdruck "im wesentlichen" in den Ansprüchen 1-3 ist nicht ausreichend klar und es ist zudem fraglich ob dieser Ausdruck durch die ursprüngliche Beschreibung gestützt wird (Einwand unter Artikel 6 PCT).

## Patentansprüche

4894/00/WO-Kil

- 1) Polymerasenchimäre zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die funktionellen Aminosäurefragmente in der Polymerasenchimäre aktiv sind und, wobei die Polymeraseaktivität aufweisende Domäne von der ersten Polymerase stammt und die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne von der zweiten Polymerase stammt und wobei die Aminosäuresequenz der Polymerasenchimäre im wesentlichen der SEQ ID NO: 8 entspricht.
- 2) Polymerasenchimäre zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die funktionellen Aminosäurefragmente in der Polymerasenchimäre aktiv sind und, wobei die Polymeraseaktivität aufweisende Domäne von der ersten Polymerase stammt und die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne von der zweiten Polymerase stammt und wobei die Aminosäuresequenz der Polymerasenchimäre im wesentlichen der SEQ ID NO: 10 entspricht.
- 3) Polymerasenchimäre zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die funktionellen Aminosäurefragmente in der Polymerasenchimäre aktiv sind und, wobei die Polymeraseaktivität aufweisende Domäne von der ersten Polymerase stammt und die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne von der zweiten Polymerase stammt und wobei die Aminosäuresequenz der Polymerasenchimäre im wesentlichen der SEQ ID NO: 12 entspricht.
- 4) Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-3, wobei Chimäre zusätzlich RT-Aktivität aufweist.
- 5) Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-4, wobei in die Aminosäuresequenz der Chimäre Histin-tag eingebaut wurden.
- 6) DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-5.
- 7) DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ ID NO: 2.
- 8) DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ ID NO: 4.

14-04-00

- 5 -

- 9) DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ ID NO: 6.
- 10) Vektor enthalten eine DNA-Sequenz gemäß der Ansprüche 6-9.
- 11) Transformierte Zelle, die den Vektor gemäß Anspruch 10 enthält.
- 12) Verfahren zur Herstellung der Polymerasenchimären gemäß einem der Ansprüche 1-5, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren die folgenden Schritte umfaßt:
  - Planung von Varianten mit Hilfe von Aminosäuresequenzalignments, von 3D-Modellen oder mit Hilfe von experimentell ermittelten 3D-Strukturen
  - gentechnische Herstellung der Domänen austauschvarianten
  - Legierung der DNA-Fragmente in Ausgangsvektoren
  - Expression der Chimären in einem Wirt, der durch DNA-Fragment tragenden Vektoren transformiert wurde
  - Aufreinigung der exprimierten Polymerasenchimäre
- 13) Verwendung der Polymerasenchimären gemäß einem der Ansprüche 1-5 zu PCR.
- 14) Verwendung der Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-5 zur Sequenzierung von DNA-Fragmenten.
- 15) Verwendung der Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-5 zur RT-PCR ausgehend von einem RNA-template.
- 16) Kit enthaltend eine Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-5.

Abb. 17/3

chimera_____	EAPYEEKDIVKEIVKREMANAVALKVPLVVEVKEGLNWIYENKI
tne.rse_____	EVPNEEKDALVELVKDRMTNVVKLSVPLEVDVTIGKTWS----
ath.rse_____	EAPYEEKDIVKEIVKREMANAVALKVPLVVEVKEGLNWIYENKI
DPO1_ECOLI	EVHKDDVDAAKQIHQLMENCTRLDVPLLVEVGSGENWDQAH-
	* .. * . . . * * * * * * * * *



## Abbildung 18/1:

SEQ ID No.: 19

SEQ ID No.: 20

SEQ ID No.: 21

SEQ ID NO.: 22

```

TNE UP   5'   CTG ACC ATG GCG AGA CTA TTT CTC TTT G   -3'
TNE LOW   5'   TCT GTC GAC CTT CAC ACC GTT CAG TTC CAT CC  -3'
ATH UP    5'   - AAG GTC GAC AGA GAT GCC CTC ATC CAA TAT ACC -3'
ATH LOW   5'   - TAG CAA GCT TCT ATT TTG TCT CAT ACC AGT -3'

```

A.

Kreuzungspunkt 1

SEQ ID No.: 23

SEQ ID No.: 24

SEQ ID No.: 25

```

chimera__8  IEMPLVSVLARMELNGV | KVDRDALIQYTKEIENKILKLETQIYQIAGEWFNINSPKQLSY
tne.rse__   IEMPLVSVLARMELNGV | YVDTEFLKKLSEYGGKLEELAEETRYRIAGEPFNINSPKQVSR
ath.rse__   IERPLIPVLYEMEXTGF | KVDRDALIQYTKEIENKILKLETQIYQIAGEWFNINSPKQLSY

```

B.

SEQ ID No.: 19

SEQ ID No.: 26

SEQ ID No.: 27

```

5' ctg acc ATG GCG AGA CTA TTT CTC TTT G -3'
TNEUP |----->
      ATG GCG AGA CTA TTT CTC TTT GAT GGA      27
      M  A  R  L  F  L  F  D  G                9

```

1

SEQ ID No.: 28

SEQ ID No.: 29

SEQ ID No.: 20

SEQ ID No.: 21

SEQ ID No.: 30

SEQ ID No.: 31

```

1512 CGG ATG GAA CTG AAC GGT GTG TAC GTG GAC ACA GAG TTC CTG AAG AAA CTC      1563
505  R  M  E  L  N  G  V  Y  V  D  T  E  F  L  K  K  L      521
3'CC CAT CTT GAC TTG CCA CAC ctt CAg cTG TcT 5'
<-----| TNELOW
      "Sal I site "
      ATHUP |----->
            5' AAG Gtc Gac AGA GAT GCC CTC ATC CAA TAT ACC -3'
1387 ATG GAA AAA ACA GGA TTT AAG GTG GAT AGA GAT GCC CTC ATC CAA TAT ACC      1435
463  M  E  K  T  G  F  K  V  D  R  D  A  L  I  Q  Y  T      479

```

Abbildung 18/2:

SEQ ID No.: 32

SEQ ID No.: 33

SEQ ID No.: 22

```
2526   GGA CTG AAC TGG TAT GAG ACA AAA TAG           2553
843     G   L   N   W   Y   E   T   K   *
      3' TG ACC ATA CTC TGT TTT ATC ttcgaacgat 5'
      <-----| ATHLOW
```

## Abbildung 19:

SEQ ID No.: 34

SEQ ID No.: 35

SEQ ID No.: 36

Kreuzungspunkt 2

```

chimera__8  IMEPLVSVLARMELNGVYVDTEFLKKLSEELYGKKLEELAEIYRIAGEPFNINSPKQVS|R
tne.rse__   IEMPLVSVLARMELNGVYVDTEFLKKLSEELYGKKLEELAEIYRIAGEPFNINSPKQVS|R
ath.rse__   IERPLIPVLYEMEKTGFKVDRDALIQYTKEIENKILKLETQIYQIAGEWFNINSPKQLS|R

```

A.

TNE Polymerase Nucleotidsequenz 1642-1689

SEQ ID No.: 37

SEQ ID No.: 38

Bam HI site

```

=====
1642  TCA CCG AAG CAG GTT TCA AGG ATC CTT TTT GAA AAA CTC GGC ATA AAA 1689
548   S  P  K  Q  V  S  R  I  L  F  E  K  L  G  I  K  563

```

SEQ ID No.: 39

SEQ ID No.: 40

SEQ ID No.: 41

SEQ ID No.: 42

ATH Polymerase Nucleotidsequenz 1513 - 1560

```

1513  TCA CCG AAA CAG CTT TCT TAC ATT TTG TTT GAA AAG CTA AAA CTT CCT 1560
505   S  P  K  Q  L  S  Y  I  L  F  E  K  L  K  L  P  520

5' CA CCG AAA CAG CTT TCT agg atc cTG TTT GAA AAG CTA AAA CTT CCT G 3'
|-----m1----->

.....3'GT GGC TTT GTC GAA AGA tcc tag gAC AAA CTT TTC GAT TTT GAA GGA C 5'
<-----m2-----|

```

B.

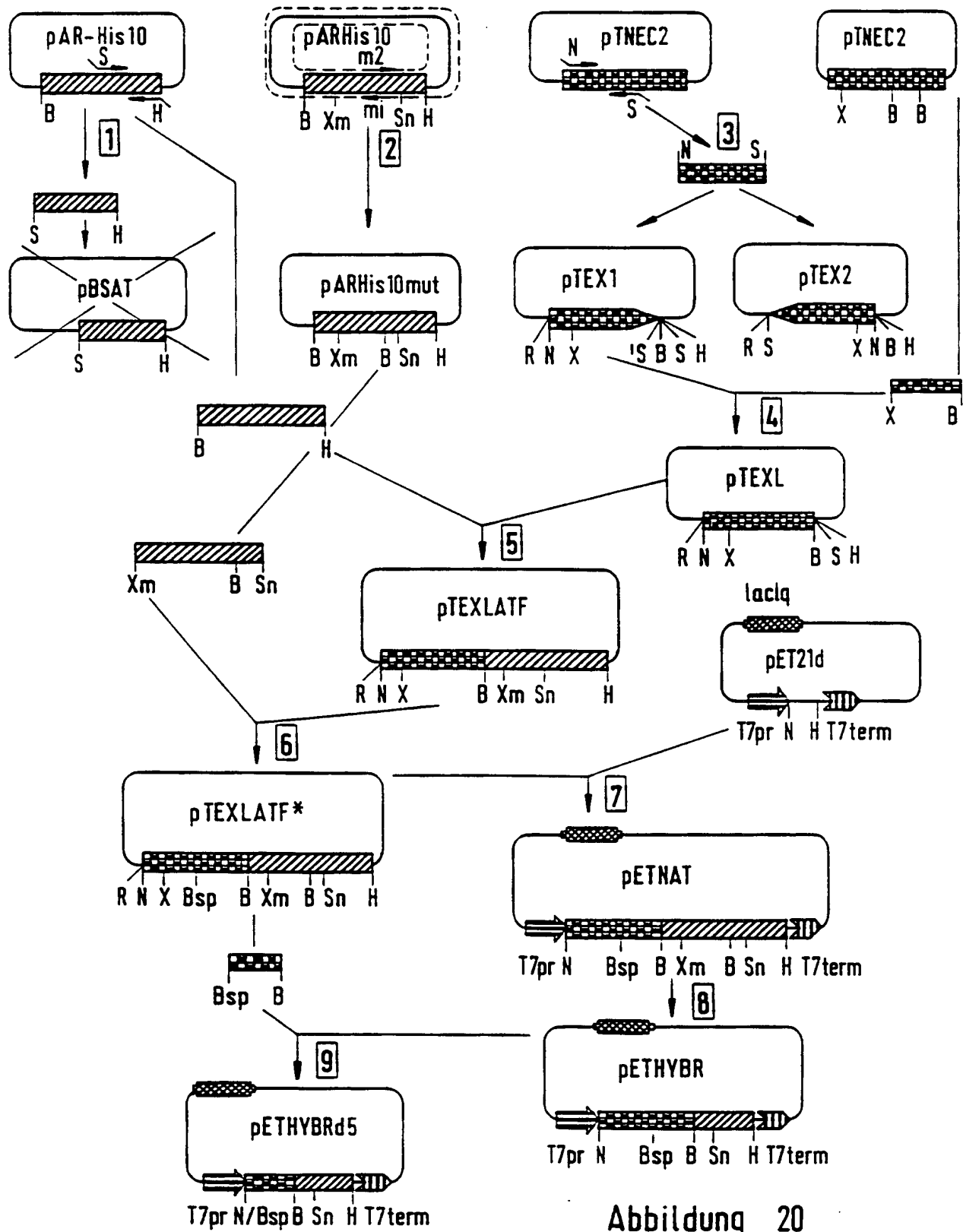


Abbildung 20

Abbildung 21:

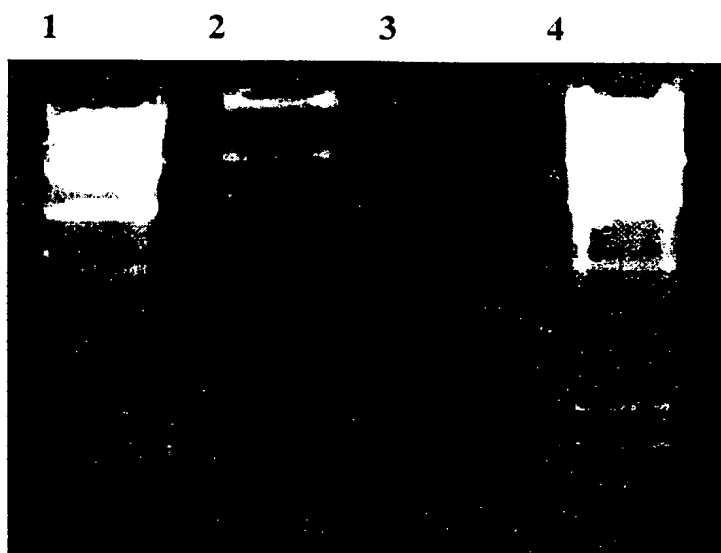
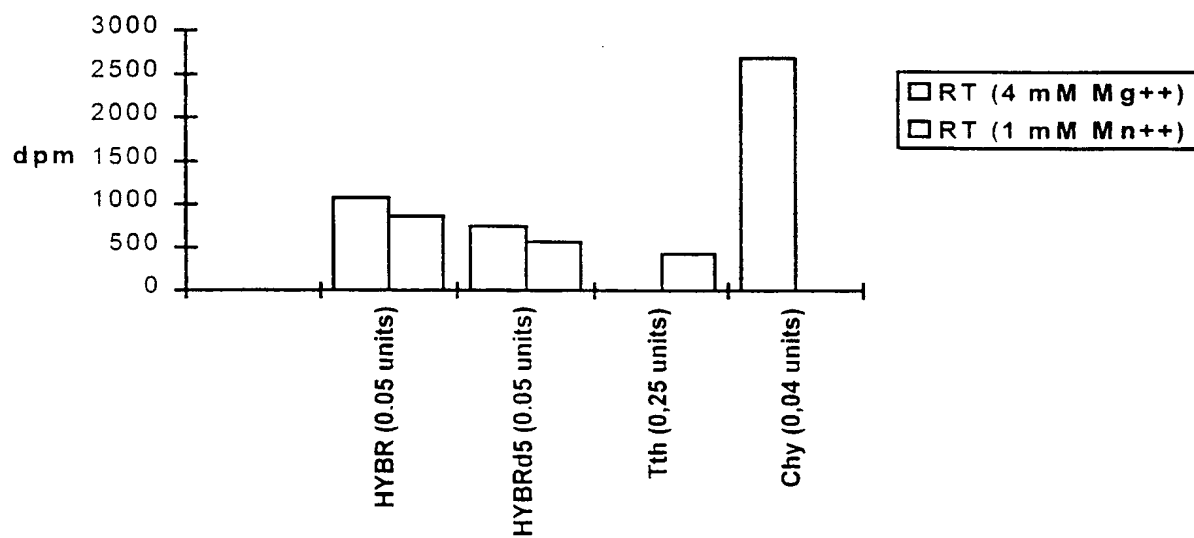


Abbildung 22:

Vergleich der Reverse-Transcriptase-Aktivität der  
Tne/Ath-Hybridpolymerasen mit Tth- und C.therm.  
Polymerase



## SEQUENZPROTOKOLL

## (1) ALLGEMEINE ANGABEN:

## (i) ANMELDER:

- (A) NAME: Boehringer Mannheim GmbH
- (B) STRASSE: Sandhoferstr. 116
- (C) ORT: Mannheim
- (E) LAND: DE
- (F) POSTLEITZAHL: 68305
- (G) TELEFON: 06217595482
- (H) TELEFAX: 06217594457

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Polymerasenchimaeren

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 14

## (iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2733 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

```
ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC   60
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC  120
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG  180
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC  240
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG  300
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG  360
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC  420
```

AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480  
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC 540  
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600  
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660  
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720  
CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780  
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840  
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900  
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCTATGAC AACTACGTCA CCATCCTTGA TGAAGAAACA 960  
CTGAAAGCGT GGATTGCGAA GCTGGAAAAA GCGCCGGTAT TTGCATTTGA TACCGAAACC 1020  
GACAGCCTTG ATAACATCTC TGCTAACCTG GTCGGGCTTT CTTTTGCTAT CGAGCCAGGC 1080  
GTAGCGGCAT ATATTCCGGT TGCTCATGAT TATCTTGATG CGCCCGATCA AATCTCTCGC 1140  
GAGCGTGCAC TCGAGTTGCT AAAACCGCTG CTGGAAGATG AAAAGGCGCT GAAGGTCGGG 1200  
CAAAACCTGA AATACGATCG CGGTATTCTG GCGAACTACG GCATTGAACT GCGTGGGATT 1260  
GCGTTTGATA CCATGCTGGA GTCCTACATT CTCAATAGCG TTGCCGGGCG TCACGATATG 1320  
GACAGCCTCG CGGAACGTTG GTTGAAGCAC AAAACCATCA CTTTTGAAGA GATTGCTGGT 1380  
AAAGGCAAAA ATCAACTGAC CTTTAACCAG ATTGCCCTCG AAGAAGCCGG ACGTTACGCC 1440  
GCCGAAGATG CAGATGTCAC CTTGCAGTTG CATCTGAAAA TGTGGCCGGA TCTGCAAAAA 1500  
CACGAGAGGC TCCTTTGGCT TTACCGGGAG GTGGAGAGGC CCCTTTCCGC TGTCTGGGCC 1560  
CACATGGAGG CCACGGGGGT GCGCCTGGAC GTGGCCTATC TCAGGGCCTT GTCCCTGGAG 1620  
GTGGCCGAGG AGGTCGCCCC CCTCGAGGCC GAGGTCTTCC GCCTGGCCCG CCACCCCTTC 1680  
AACCTCAACT CCCGGGACCA GCTGGAAAGG GTCCTCTTTG ACGAGCTAGG GCTTCCCGCC 1740  
ATCGGCAAGA CGGAGAAGAC CGGCAAGCGC TCCACCAGCG CCGCCGTCCT GGAGGCCCTC 1800  
CGCGAGGCCC ACCCCATCGT GGAGAAGATC CTGCAGTACC GGGAGCTCAC CAAGCTGAAG 1860  
AGCACCTACA TTGACCCCTT GCCGGACCTC ATCCACCCCA GGACGGGCCG CCTCCACACC 1920



CGCTTCAACC AGACGGCCAC GGCCACGGGC AGGCTAAGTA GCTCCGATCC CAACCTCCAG 1980  
AACATCCCCG TCCGCACCCC GCTTGGGCAG AGGATCCGCC GGGCCTTCAT CGCCGAGGAG 2040  
GGGTGGCTAT TGGTGGCCCT GGA CTATAGC CAGATAGAGC TCAGGGTGCT GGCCACCTC 2100  
TCCGGCGACG AGAACCTGAT CCGGGTCTTC CAGGAGGGGC GGGACATCCA CACGGAGACC 2160  
GCCAGCTGGA TGTTCGGCGT CCCCCGGGAG GCCGTGGACC CCCTGATGCG CCGGGCGGCC 2220  
AAGACCATCA ACTTCGGGGT CCTCTACGGC ATGTCGGCCC ACCGCCTCTC CCAGGAGCTA 2280  
GCCATCCCTT ACGAGGAGGC CCAGGCCTTC ATTGAGCGCT ACTTTCAGAG CTTCCCCAAG 2340  
GTGCGGGCCT GGATTGAGAA GACCCTGGAG GAGGGCAGGA GGCGGGGGTA CGTGGAGACC 2400  
CTCTTCGGCC GCCGCCGCTA CGTGCCAGAC CTAGAGGCCC GGGTGAAGAG CGTGCGGGAG 2460  
GCGGCCGAGC GCATGGCCTT CAACATGCCC GTCCAGGGCA CCGCCGCCGA CCTCATGAAG 2520  
CTGGCTATGG TGAAGCTCTT CCCCAGGCTG GAGGAAATGG GGGCCAGGAT GCTCCTTCAG 2580  
GTCCACGACG AGCTGGTCCT CGAGGCCCCA AAAGAGAGGG CGGAGGCCGT GGCCCGGCTG 2640  
GCCAAGGAGG TCATGGAGGG GGTGTATCCC CTGGCCGTGC CCCTGGAGGT GGAGGTGGGG 2700  
ATAGGGGAGG ACTGGCTCTC CGCCAAGGAG TGA 2733

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2733 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60  
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120  
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180  
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240  
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300

GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360  
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420  
AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480  
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC 540  
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600  
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660  
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720  
CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780  
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840  
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900  
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCTATGAC AACTACGTCA CCATCCTTGA TGAAGAAACA 960  
CTGAAAGCGT GGATTGCGAA GCTGGAAAAA GCGCCGGTAT TTGCATTGA TACCGAAACC 1020  
GACAGCCTTG ATAACATCTC TGCTAACCTG GTCGGGCTTT CTTTTGCTAT CGAGCCAGGC 1080  
GTAGCGGCAT ATATTCCGGT TGCTCATGAT TATCTTGATG CGCCCGATCA AATCTCTCGC 1140  
GAGCGTGCAC TCGAGTTGCT AAAACCGCTG CTGGAAGATG AAAAGGCGCT GAAGGTCGGG 1200  
CAAAACCTGA AATACGATCG CGGTATTCTG GCGAACTACG GCATTGAACT GCGTGGGATT 1260  
GCGTTTGATA CCATGCTGGA GTCCTACATT CTCAATAGCG TTGCCGGGCG TCACGATATG 1320  
GACAGCCTCG CGGAACGTTG GTTGAAGCAC AAAACCATCA CTTTTGAAGA GATTGCTGGT 1380  
AAAGGCAAAA ATCAACTGAC CTTTAACCAG ATTGCCCTCG AAGAAGCCGG ACGTTACGCC 1440  
GCCGAAGATG CAGATGTCAC CTTGCAGTTG CATCTGAAAA TGTGGCCGGA TCTGCAAAAA 1500  
CACAAAGGGC CGTTGAACGT CTTGAGAAT ATCGAAATGC CGCTGGTGCC GGTGCTTTCA 1560  
CGCATTGAAC GTAACGGTGT GCGCCTGGAC GTGGCCTATC TCAGGGCCTT GTCCCTGGAG 1620  
GTGGCCGAGG AGATCGCCCG CCTCGAGGCC GAGGTCTTCC GCCTGGCCGG CCACCCCTTC 1680  
AACCTCAACT CCCGGGACCA GCTGGAAAGG GTCCTCTTTG ACGAGCTAGG GCTTCCCGCC 1740  
ATCGGCAAGA CGGAGAAGAC CGGCAAGCGC TCCACCAGCG CCGCCGTCTT GGAGGCCCTC 1800

CGCGAGGCCC ACCCCATCGT GGAGAAGATC CTGCAGTACC GGGAGCTCAC CAAGCTGAAG 1860  
 AGCACCTACA TTGACCCCTT GCCGGACCTC ATCCACCCCA GGACGGGCCG CCTCCACACC 1920  
 CGCTTCAACC AGACGGCCAC GGCCACGGGC AGGCTAAGTA GCTCCGATCC CAACCTCCAG 1980  
 AACATCCCCG TCCGCACCCC GCTTGGGCAG AGGATCCGCC GGGCCTTCAT CGCCGAGGAG 2040  
 GGGTGGCTAT TGGTGGCCCT GGA CTATAGC CAGATAGAGC TCAGGGTGCT GGCCACCTC 2100  
 TCCGGCGACG AGAACCTGAT CCGGGTCTTC CAGGAGGGGC GGGACATCCA CACGGAGACC 2160  
 GCCAGCTGGA TGTTGCGCGT CCCCCGGGAG GCCGTGGACC CCCTGATGCG CCGGGCGGCC 2220  
 AAGACCATCA ACTTCGGGGT CCTCTACGGC ATGTCGGCCC ACCGCCTCTC CCAGGAGCTA 2280  
 GCCATCCCTT ACGAGGAGGC CCAGGCCTTC ATTGAGCGCT ACTTTCAGAG CTTCCCCAAG 2340  
 GTGCGGGCCT GGATTGAGAA GACCCTGGAG GAGGGCAGGA GGCGGGGGTA CGTGGAGACC 2400  
 CTCTTCGGCC GCCGCCGCTA CGTGCCAGAC CTAGAGGCCC GGGTGAAGAG CGTGCGGGAG 2460  
 GCGGCCGAGC GCATGGCCTT CAACATGCCC GTCCAGGGCA CCGCCGCCGA CCTCATGAAG 2520  
 CTGGCTATGG TGAAGCTCTT CCCAGGCTG GAGGAAATGG GGGCCAGGAT GCTCCTTCAG 2580  
 GTCCACGACG AGCTGGTCCT CGAGGCCCCA AAAGAGAGGG CGGAGGCCGT GGCCCGGCTG 2640  
 GCCAAGGAGG TCATGGAGGG GGTGTATCCC CTGGCCGTGC CCCTGGAGGT GGAGGTGGGG 2700  
 ATAGGGGAGG ACTGGCTCTC CGCCAAGGAG TGA 2733

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2727 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60  
 ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120  
 TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180

GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240  
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300  
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360  
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420  
AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480  
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC 540  
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600  
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660  
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720  
CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780  
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840  
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900  
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCCGTT GGATACAGAA TAGTGAAAGA CCTGGTGGAA 960  
TTTGAAAAAC TCATAGAGAA ACTGAGAGAA TCCCCTTCGT TCGCCATAGA TCTTGAGACG 1020  
TCTTCCCTCG ATCCTTTTGA CTGCGACATT GTCGGTATCT CTGTGTCTTT CAAACCAAAG 1080  
GAAGCGTACT ACATACCACT CCATCATAGA AACGCCCAGA ACCTGGATGA AAAAGAAGTT 1140  
CTGAAAAGC TAAAAGAAAT CCTGGAGGAC CCCGGAGCAA AGATCGTTGG TCAGAATTTG 1200  
AAATTCGATT ACAAGGTGTT GATGGTAAAG GGTGTTGAAC CTGTCCCTCC TCACTTCGAC 1260  
ACGATGATAG CGGCTTACCT TCTTGAGCCG AACGAAAAGA AGTTCAATCT GGACGATCTC 1320  
GCATTGAAAT TTCTTGATA CAAAATGACC TCTTACCAGG AACTCATGTC CTTCTCTTCT 1380  
CCGCTGTTTG GTTTCAGTTT TGCCGATGTT CCTGTAGAAA AAGCAGCGAA CTATTCCTGT 1440  
GAAGATGCCG ACATCACCTA CAGACTCTAC AAGATCCTGA GCTTAAAACT CCACGAGGAG 1500  
AGGCTCCTTT GGCTTTACCG GGAGGTGGAG AGGCCCCTTT CCGCTGTCCT GGCCCACATG 1560  
GAGGCCACGG GGGTGCGCCT GGACGTGGCC TATCTCAGGG CTTGTCCCT GGAGGTGGCC 1620  
GAGGAGATCG CCCGCCTCGA GGCCGAGGTC TTCCGCCTGG CCGGCCACCC CTTCAACCTC 1680

AACTCCCGGG ACCAGCTGGA AAGGGTCCTC TTTGACGAGC TAGGGCTTCC CGCCATCGGC 1740  
 AAGACGGAGA AGACCGGCAA GCGCTCCACC AGCGCCGCCG TCCTGGAGGC CCTCCGCGAG 1800  
 GCCCACCCCA TCGTGGAGAA GATCCTGCAG TACCGGGAGC TCACCAAGCT GAAGAGCACC 1860  
 TACATTGACC CCTTGCCGGA CCTCATCCAC CCCAGGACGG GCCGCCTCCA CACCCGCTTC 1920  
 AACCAGACGG CCACGGCCAC GGGCAGGCTA AGTAGCTCCG ATCCCAACCT CCAGAACATC 1980  
 CCCGTCCGCA CCCCCTTGG GCAGAGGATC CGCCGGGCCT TCATCGCCGA GGAGGGGTGG 2040  
 CTATTGGTGG CCCTGGACTA TAGCCAGATA GAGCTCAGGG TGCTGGCCCA CCTCTCCGGC 2100  
 GACGAGAACC TGATCCGGGT CTTCCAGGAG GGGCGGGACA TCCACACGGA GACCGCCAGC 2160  
 TGGATGTTTC GCGTCCCCCG GGAGGCCGTG GACCCCTGA TCGCCGGGC GGCCAAGACC 2220  
 ATCAACTTCG GGGTCCTCTA CGGCATGTCG GCCCACC GCC TCTCCAGGA GCTAGCCATC 2280  
 CCTTACGAGG AGGCCCAGGC CTTATTGAG CGCTACTTTC AGAGCTTCCC CAAGGTGCGG 2340  
 GCCTGGATTG AGAAGACCCT GGAGGAGGGC AGGAGGCGGG GGTACGTGGA GACCCCTCTC 2400  
 GGCCGCCGCC GCTACGTGCC AGACCTAGAG GCCCGGGTGA AGAGCGTGCG GGAGGCGGCC 2460  
 GAGCGCATGG CTTTCAACAT GCCCGTCCAG GGCACCGCCG CCGACCTCAT GAAGCTGGCT 2520  
 ATGGTGAAGC TCTTCCCCAG GCTGGAGGAA ATGGGGGCCA GGATGCTCCT TCAGGTCCAC 2580  
 GACGAGCTGG TCCTCGAGGC CCCAAAAGAG AGGGCGGAGG CCGTGGCCCG GCTGGCCAAG 2640  
 GAGGTCATGG AGGGGGTGTA TCCCCTGGCC GTGCCCTGG AGGTGGAGGT GGGGATAGGG 2700  
 GAGGACTGGC TCTCCGCCAA GGAGTGA 2727

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2727 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

ATGAGGGGCT CGCATACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60

ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120  
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180  
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240  
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300  
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360  
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420  
AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480  
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC 540  
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600  
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660  
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720  
CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780  
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840  
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900  
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCCGTT GGATACAGAA TAGTGAAAGA CCTGGTGGAA 960  
TTTGAAAAAC TCATAGAGAA ACTGAGAGAA TCCCCTTCGT TCGCCATAGA TCTTGAGACG 1020  
TCTTCCCTCG ATCCTTTCGA CTGCGACATT GTCGGTATCT CTGTGTCTTT CAAACCAAAG 1080  
GAAGCGTACT ACATACCACT CCATCATAGA AACGCCCAGA ACCTGGATGA AAAAGAAGTT 1140  
CTGAAAAAGC TAAAAGAAAT CCTGGAGGAC CCCGGAGCAA AGATCGTTGG TCAGAATTTG 1200  
AAATTCGATT ACAAGGTGTT GATGGTAAAG GGTGTTGAAC CTGTCCCTCC TCACTTCGAC 1260  
ACGATGATAG CGGCTTACCT TCTTGAGCCG AACGAAAAGA AGTTCAATCT GGACGATCTC 1320  
GCATTGAAAT TTCTTGATA CAAAATGACC TCTTACCAGG AACTCATGTC CTTCTCTTCT 1380  
CCGCTGTTTG GTTTCAGTTT TGCCGATGTT CCTGTAGAAA AAGCAGCGAA CTATTCCTGT 1440  
GAAGATGCAG ACATCACCTA CAGACTCTAC AAGATCCTGA GCTTAAAACT CCACGAGGCA 1500  
GATCTGGAGA ACGTGTCTA CAAGATAGAA ATGCCTCTTG TGAGCGTGCT TGCACGGATG 1560

GAAGTGAACG GTGTGCGCCT GGACGTGGCC TATCTCAGGG CCTTGTCCCT GGAGGTGGCC 1620  
GAGGAGATCG CCCGCCTCGA GGCCGAGGTC TTCCGCCTGG CCGGCCACCC CTTCAACCTC 1680  
AACTCCCGGG ACCAGCTGGA AAGGGTCCTC TTTGACGAGC TAGGGCTTCC CGCCATCGGC 1740  
AAGACGGAGA AGACCGGCAA GCGCTCTACC AGCGCCGCCG TCCTGGAGGC CCTCCGCGAG 1800  
GCCCACCCCA TCGTGGAGAA GATCCTGCAG TACCGGGAGC TCACCAAGCT GAAGAGCACC 1860  
TACATTGACC CCTTGCCGGA CCTCATCCAC CCCAGGACGG GCCGCCTCCA CACCCGCTTC 1920  
AACCAGACGG CCACGGCCAC GGGCAGGCTA AGTAGCTCCG ATCCCAACCT CCAGAACATC 1980  
CCCGTCCGCA CCCCCTTGG GCAGAGGATC CGCCGGGCCT TCATCGCCGA GGAGGGGTGG 2040  
CTATTGGTGG CCCTGGACTA TAGCCAGATA GAGCTCAGGG TGCTGGCCCA CCTCTCCGGC 2100  
GACGAGAACC TGATCCGGGT CTTCCAGGAG GGGCGGGACA TCCACACGGA GACCGCCAGC 2160  
TGGATGTTTC GCGTCCCCCG GGAGGCCGTG GACCCCTGA TGCGCCGGGC GGCCAAGACC 2220  
ATCAACTTCG GGGTCCTCTA CGGCATGTCG GCCCACC GCC TCTCCCAGGA GCTAGCCATC 2280  
CCTTACGAGG AGGCCAGGC CTTTATTGAG CGCTACTTTC AGAGCTTCCC CAAGGTGCGG 2340  
GCCTGGATTG AGAAGACCCT GGAGGAGGGC AGGAGGCGGG GGTACGTGGA GACCCTCTTC 2400  
GGCCGCCGCC GCTACGTGCC AGACCTAGAG GCCCGGGTGA AGAGCGTGCG GGAGGCGGCC 2460  
GAGCGCATGG CTTTCAACAT GCCCGTCCAG GGCACCGCCG CCGACCTCAT GAAGCTGGCT 2520  
ATGGTGAAGC TCTTCCCCAG GCTGGAGGAA ATGGGGGCCA GGATGCTCCT TCAGGTCCAC 2580  
GACGAGCTGG TCCTCGAGGC CCCAAAAGAG AGGGCGGAGG CCGTGGCCCG GCTGGCCAAG 2640  
GAGGTCATGG AGGGGGTGTA TCCCCTGGCC GTGCCCCTGG AGGTGGAGGT GGGGATAGGG 2700  
GAGGACTGGC TCTCCGCCAA GGAGTGA 2727

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2850 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60  
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120  
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180  
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240  
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300  
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGA CTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360  
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420  
AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480  
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC 540  
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCC ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600  
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660  
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720  
CTGAAGCCCC CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780  
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840  
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900  
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCATCCA GCAGTTGTGG ACATCTTCGA ATACGATATT 960  
CCATTGCAA AGAGATACCT CATCGACAAA GGCCTAATAC CAATGGAGGG GGAAGAAGAG 1020  
CTAAAGATTC TTGCCTTCGA TATAGAAACC CTCTATCACG AAGGAGAAGA GTTTGGAAAA 1080  
GGCCCAATTA TAATGATTAG TTATGCAGAT GAAAATGAAG CAAAGGTGAT TACTTGAAAA 1140  
AACATAGATC TTCCATACGT TGAGGTTGTA TCAAGCGAGA GAGAGATGAT AAAGAGATTT 1200  
CTCAGGATTA TCAGGGAGAA GGATCCTGAC ATTATAGTTA CTTATAATGG AGACTCATTC 1260  
GACTTCCCAT ATTTAGCGAA AAGGGCAGAA AACTTGGGA TTAAATTAAC CATTGGAAGA 1320  
GATGGAAGCG AGCCCAAGAT GCAGAGAATA GGCGATATGA CGGCTGTAGA AGTCAAGGGA 1380  
AGAATACATT TCGACTTGTA TCATGTAATA ACAAGGACAA TAAATCTCCC AACATACACA 1440



CTAGAGGCTG TATATGAAGC AATTTTGGGA AAGCCAAAGG AGAAGGTATA CGCCGACGAG 1500  
ATAGCAAAAG CCTGGGAAAG TGGAGAGAAC CTTGAGAGAG TTGCCAAATA CTCGATGGAA 1560  
GATGCAAAGG CAACTTATGA ACTCGGGAAA GAATTCCTTC CAATGGAAAT TCAGCTTTCA 1620  
GAGAGGCTCC TTTGGCTTTA CCGGGAGGTG GAGAGGCCCC TTTCCGCTGT CCTGGCCCAC 1680  
ATGGAGGCCA CGGGGGTGCG CCTGGACGTG GCCTATCTCA GGGCCTTGTC CCTGGAGGTG 1740  
GCCGAGGAGA TCGCCCGCCT CGAGGCCGAG GTCTTCCGCC TGGCCGGCCA CCCCTTCAAC 1800  
CTCAACTCCC GGGACCAGCT GGAAAGGGTC CTCTTTGACG AGCTAGGGCT TCCCGCCATC 1860  
GGCAAGACGG AGAAGACCGG CAAGCGCTCC ACCAGCGCCG CCGTCCTGGA GGCCCTCCGC 1920  
GAGGCCACC CCATCGTGGA GAAGATCCTG CAGTACCGGG AGCTACCAA GCTGAAGAGC 1980  
ACCTACATTG ACCCCTTGCC GGACCTCATC CACCCAGGA CGGGCCGCCT CCACACCCGC 2040  
TTCAACCAGA CGGCCACGGC CACGGGCAGG CTAAGTAGCT CCGATCCCAA CCTCCAGAAC 2100  
ATCCCCGTCC GCACCCCGCT TGGGCAGAGG ATCCGCCGGG CCTTCATCGC CGAGGAGGGG 2160  
TGGCTATTGG TGGCCCTGGA CTATAGCCAG ATAGAGCTCA GGGTGCTGGC CCACCTCTCC 2220  
GGCGACGAGA ACCTGATCCG GGTCTTCCAG GAGGGGCGGG ACATCCACAC GGAGACCGCC 2280  
AGCTGGATGT TCGGCGTCCC CCGGGAGGCC GTGGACCCCC TGATGCGCCG GGCGGCCAAG 2340  
ACCATCAACT TCGGGGTCCT CTACGGCATG TCGGCCACC GCCTCTCCA GGAGCTAGCC 2400  
ATCCCTTACG AGGAGGCCCA GGCCTTCATT GAGCGCTACT TTCAGAGCTT CCCAAGGTG 2460  
CGGGCCTGGA TTGAGAAGAC CCTGGAGGAG GGCAGGAGGC GGGGTACGT GGAGACCCTC 2520  
TTCGGCCGCC GCCGCTACGT GCCAGACCTA GAGGCCCGGG TGAAGAGCGT GCGGGAGGCG 2580  
GCCGAGCGCA TGGCCTTCAA CATGCCCGTC CAGGGCACCG CCGCCGACCT CATGAAGCTG 2640  
GCTATGGTGA AGCTCTTCCC CAGGCTGGAG GAAATGGGGG CCAGGATGCT CCTTCAGGTC 2700  
CACGACGAGC TGGTCCTCGA GGCCCCAAA GAGAGGGCGG AGGCCGTGGC CCGGCTGGCC 2760  
AAGGAGGTCA TGGAGGGGGT GTATCCCCTG GCCGTGCCCC TGGAGGTGGA GGTGGGGATA 2820  
GGGGAGGACT GGCTCTCCGC CAAGGAGTGA 2850

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2949 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

```
ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420
AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCGAGGG GTACCTCATC 540
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720
CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCGTTAGA GAACATCCAG CAGTTGTGGA CATCTTCGAA 960
TACGATATTC CATTTGCAAA GAGATACCTC ATCGACAAAG GCCTAATACC AATGGAGGGG 1020
GAAGAAGAGC TAAAGATTCT TGCCTTCGAT ATAGAAACCC TCTATCACGA AGGAGAAGAG 1080
TTTGGAAGG GCCCAATTAT AATGATTAGT TATGCAGATG AAAATGAAGC AAAGGTGATT 1140
```

ACTTGGA AAA ACATAGATCT TCCATACGTT GAGGTTGTAT CAAGCGAGAG AGAGATGATA 1200  
AAGAGATTTC TCAGGATTAT CAGGGAGAAG GATCCTGACA TTATAGTTAC TTATAATGGA 1260  
GACTCATTCG ACTTCCCATA TTTAGCGAAA AGGGCAGAAA AACTTGGGAT TAAATTAACC 1320  
ATTGGAAGAG ATGGAAGCGA GCCCAAGATG CAGAGAATAG GCGATATGAC GGCTGTAGAA 1380  
GTCAAGGGAA GAATACATTT CGACTTGTAT CATGTAATAA CAAGGACAAT AAATCTCCCA 1440  
ACATACACAC TAGAGGCTGT ATATGAAGCA ATTTTGGAA AGCCAAAGGA GAAGGTATAC 1500  
GCCGACGAGA TAGCAAAGC CTGGGAAAGT GGAGAGAACC TTGAGAGAGT TGCCAAATAC 1560  
TCGATGGAAG ATGCAAAGGC AACTTATGAA CTCGGGAAAG AATTCCTTCC AATGGAAATT 1620  
CAGCTTTCAA GATTAGTTGG ACAACCTTTA TGGGATGTTT CAAGGTCAAG CACAGGGAAC 1680  
CTTGTAGAGT GGTCTTACT TAGGAAAGCC TACGAAAGAA ACGAAGTAGC TCCAAACAAG 1740  
CCAAGTGAAG AGGAGTATCA AAGAAGGCTC AGGGAGAGCT ACACAGGTGG ATTCGTGCGC 1800  
CTGGACGTGG CCTATCTCAG GGCCTTGTCC CTGGAGGTGG CCGAGGAGAT CGCCCGCCTC 1860  
GAGGCCGAGG TCTTCCGCCT GGCCGGCCAC CCCTTCAACC TCAACTCCCG GGACCAGCTG 1920  
GAAAGGGTCC TCTTTGACGA GCTAGGGCTT CCCGCCATCG GCAAGACGGA GAAGACCGGC 1980  
AAGCGCTCCA CCAGCGCCGC CGTCCTGGAG GCCCTCCGCG AGGCCCACCC CATCGTGGAG 2040  
AAGATCCTGC AGTACCGGGA GCTCACCAAG CTGAAGAGCA CCTACATTGA CCCCTTGCCG 2100  
GACCTCATCC ACCCCAGGAC GGGCCGCCTC CACACCCGCT TCAACCAGAC GGCCACGGCC 2160  
ACGGGCAGGC TAAGTAGCTC CGATCCCAAC CTCCAGAACA TCCCCGTCCG CACCCCGCTT 2220  
GGGCAGAGGA TCCGCCGGGC CTTTCATCGCC GAGGAGGGGT GGCTATTGGT GGCCCTGGAC 2280  
TATAGCCAGA TAGAGCTCAG GGTGCTGGCC CACCTCTCCG GCGACGAGAA CCTGATCCGG 2340  
GTCTTCCAGG AGGGGCGGGA CATCCACACG GAGACCGCCA GCTGGATGTT CGGCGTCCCC 2400  
CGGGAGGCCG TGGACCCCT GATGCGCCGG GCGGCCAAGA CCATCAACTT CGGGGTCTCTC 2460  
TACGGCATGT CGGCCCACCG CCTCTCCAG GAGCTAGCCA TCCCTTACGA GGAGGCCAG 2520  
GCCTTCATTG AGCGCTACTT TCAGAGCTTC CCCAAGGTGC GGGCCTGGAT TGAGAAGACC 2580  
CTGGAGGAGG GCAGGAGGCG GGGGTACGTG GAGACCCTCT TCGGCCGCCG CCGCTACGTG 2640

CCAGACCTAG AGGCCCCGGGT GAAGAGCGTG CGGGAGGCGG CCGAGCGCAT GGCCTTCAAC 2700  
 ATGCCCCGTCC AGGGCACCGC CGCCGACCTC ATGAAGCTGG CTATGGTGAA GCTCTTCCCC 2760  
 AGGCTGGAGG AAATGGGGGC CAGGATGCTC CTTCAGGTCC ACGACGAGCT GGTCTCTGAG 2820  
 GCCCCAAAAG AGAGGGCGGA GGCCGTGGCC CGGCTGGCCA AGGAGGTCAT GGAGGGGGTG 2880  
 TATCCCCTGG CCGTGCCCCT GGAGGTGGAG GTGGGGATAG GGGAGGACTG GCTCTCCGCC 2940  
 AAGGAGTGA 2949

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 910 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

Met	Arg	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	Ala	Ala	Asp	Asp	Asp	Asp	1	5	10	15
Lys	Met	Arg	Gly	Met	Leu	Pro	Leu	Phe	Glu	Pro	Lys	Gly	Arg	Val	Leu	20	25	30	
Leu	Val	Asp	Gly	His	His	Leu	Ala	Tyr	Arg	Thr	Phe	His	Ala	Leu	Lys	35	40	45	
Gly	Leu	Thr	Thr	Ser	Arg	Gly	Glu	Pro	Val	Gln	Ala	Val	Tyr	Gly	Phe	50	55	60	
Ala	Lys	Ser	Leu	Leu	Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Asp	Gly	Asp	Ala	Val	Ile	65	70	75	80
Val	Val	Phe	Asp	Ala	Lys	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	His	Glu	Ala	Tyr	Gly	85	90	95	
Gly	Tyr	Lys	Ala	Gly	Arg	Ala	Pro	Thr	Pro	Glu	Asp	Phe	Pro	Arg	Gln	100	105	110	
Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Glu	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg	Leu	115	120	125	

Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
 130 135 140

Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
 145 150 155 160

Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu  
 165 170 175

Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg  
 180 185 190

Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp  
 195 200 205

Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu  
 210 215 220

Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg  
 225 230 235 240

Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu  
 245 250 255

Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270

Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285

Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300

Leu Glu Ser Pro Tyr Asp Asn Tyr Val Thr Ile Leu Asp Glu Glu Thr  
 305 310 315 320

Leu Lys Ala Trp Ile Ala Lys Leu Glu Lys Ala Pro Val Phe Ala Phe  
 325 330 335

Asp Thr Glu Thr Asp Ser Leu Asp Asn Ile Ser Ala Asn Leu Val Gly  
 340 345 350

Leu Ser Phe Ala Ile Glu Pro Gly Val Ala Ala Tyr Ile Pro Val Ala  
 355 360 365

His Asp Tyr Leu Asp Ala Pro Asp Gln Ile Ser Arg Glu Arg Ala Leu  
 370 375 380

Glu Leu Leu Lys Pro Leu Leu Glu Asp Glu Lys Ala Leu Lys Val Gly  
 385 390 395 400

Gln Asn Leu Lys Tyr Asp Arg Gly Ile Leu Ala Asn Tyr Gly Ile Glu  
 405 410 415  
 Leu Arg Gly Ile Ala Phe Asp Thr Met Leu Glu Ser Tyr Ile Leu Asn  
 420 425 430  
 Ser Val Ala Gly Arg His Asp Met Asp Ser Leu Ala Glu Arg Trp Leu  
 435 440 445  
 Lys His Lys Thr Ile Thr Phe Glu Glu Ile Ala Gly Lys Gly Lys Asn  
 450 455 460  
 Gln Leu Thr Phe Asn Gln Ile Ala Leu Glu Glu Ala Gly Arg Tyr Ala  
 465 470 475 480  
 Ala Glu Asp Ala Asp Val Thr Leu Gln Leu His Leu Lys Met Trp Pro  
 485 490 495  
 Asp Leu Gln Lys His Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg Glu Val Glu  
 500 505 510  
 Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr Gly Val Arg  
 515 520 525  
 Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu  
 530 535 540  
 Val Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe  
 545 550 555 560  
 Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu  
 565 570 575  
 Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr  
 580 585 590  
 Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile Val Glu  
 595 600 605  
 Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile  
 610 615 620  
 Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu His Thr  
 625 630 635 640  
 Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp  
 645 650 655  
 Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile  
 660 665 670

Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp  
 675 680 685  
 Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly Asp Glu  
 690 695 700  
 Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr  
 705 710 715 720  
 Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro Leu Met  
 725 730 735  
 Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser  
 740 745 750  
 Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln  
 755 760 765  
 Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp  
 770 775 780  
 Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr  
 785 790 795 800  
 Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys  
 805 810 815  
 Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln  
 820 825 830  
 Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro  
 835 840 845  
 Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu  
 850 855 860  
 Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu  
 865 870 875 880  
 Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu  
 885 890 895  
 Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu  
 900 905 910

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 910 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

Met	Arg	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	Ala	Ala	Asp	Asp	Asp	Asp	1	5	10	15
Lys	Met	Arg	Gly	Met	Leu	Pro	Leu	Phe	Glu	Pro	Lys	Gly	Arg	Val	Leu	20	25	30	
Leu	Val	Asp	Gly	His	His	Leu	Ala	Tyr	Arg	Thr	Phe	His	Ala	Leu	Lys	35	40	45	
Gly	Leu	Thr	Thr	Ser	Arg	Gly	Glu	Pro	Val	Gln	Ala	Val	Tyr	Gly	Phe	50	55	60	
Ala	Lys	Ser	Leu	Leu	Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Asp	Gly	Asp	Ala	Val	Ile	65	70	75	80
Val	Val	Phe	Asp	Ala	Lys	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	His	Glu	Ala	Tyr	Gly	85	90	95	
Gly	Tyr	Lys	Ala	Gly	Arg	Ala	Pro	Thr	Pro	Glu	Asp	Phe	Pro	Arg	Gln	100	105	110	
Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Glu	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg	Leu	115	120	125	
Glu	Val	Pro	Gly	Tyr	Glu	Ala	Asp	Asp	Val	Leu	Ala	Ser	Leu	Ala	Lys	130	135	140	
Lys	Ala	Glu	Lys	Glu	Gly	Tyr	Glu	Val	Arg	Ile	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	145	150	155	160
Asp	Leu	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg	Ile	His	Val	Leu	His	Pro	Glu	165	170	175	
Gly	Tyr	Leu	Ile	Thr	Pro	Ala	Trp	Leu	Trp	Glu	Lys	Tyr	Gly	Leu	Arg	180	185	190	
Pro	Asp	Gln	Trp	Ala	Asp	Tyr	Arg	Ala	Leu	Thr	Gly	Asp	Glu	Ser	Asp	195	200	205	



Asn	Leu	Pro	Gly	Val	Lys	Gly	Ile	Gly	Glu	Lys	Thr	Ala	Arg	Lys	Leu	210	215	220	
Leu	Glu	Glu	Trp	Gly	Ser	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Lys	Asn	Leu	Asp	Arg	225	230	235	240
Leu	Lys	Pro	Ala	Ile	Arg	Glu	Lys	Ile	Leu	Ala	His	Met	Asp	Asp	Leu	245	250	255	
Lys	Leu	Ser	Trp	Asp	Leu	Ala	Lys	Val	Arg	Thr	Asp	Leu	Pro	Leu	Glu	260	265	270	
Val	Asp	Phe	Ala	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Asp	Arg	Glu	Arg	Leu	Arg	Ala	275	280	285	
Phe	Leu	Glu	Arg	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Leu	Leu	His	Glu	Phe	Gly	Leu	290	295	300	
Leu	Glu	Ser	Pro	Tyr	Asp	Asn	Tyr	Val	Thr	Ile	Leu	Asp	Glu	Glu	Thr	305	310	315	320
Leu	Lys	Ala	Trp	Ile	Ala	Lys	Leu	Glu	Lys	Ala	Pro	Val	Phe	Ala	Phe	325	330	335	
Asp	Thr	Glu	Thr	Asp	Ser	Leu	Asp	Asn	Ile	Ser	Ala	Asn	Leu	Val	Gly	340	345	350	
Leu	Ser	Phe	Ala	Ile	Glu	Pro	Gly	Val	Ala	Ala	Tyr	Ile	Pro	Val	Ala	355	360	365	
His	Asp	Tyr	Leu	Asp	Ala	Pro	Asp	Gln	Ile	Ser	Arg	Glu	Arg	Ala	Leu	370	375	380	
Glu	Leu	Leu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Asp	Glu	Lys	Ala	Leu	Lys	Val	Gly	385	390	395	400
Gln	Asn	Leu	Lys	Tyr	Asp	Arg	Gly	Ile	Leu	Ala	Asn	Tyr	Gly	Ile	Glu	405	410	415	
Leu	Arg	Gly	Ile	Ala	Phe	Asp	Thr	Met	Leu	Glu	Ser	Tyr	Ile	Leu	Asn	420	425	430	
Ser	Val	Ala	Gly	Arg	His	Asp	Met	Asp	Ser	Leu	Ala	Glu	Arg	Trp	Leu	435	440	445	
Lys	His	Lys	Thr	Ile	Thr	Phe	Glu	Glu	Ile	Ala	Gly	Lys	Gly	Lys	Asn	450	455	460	
Gln	Leu	Thr	Phe	Asn	Gln	Ile	Ala	Leu	Glu	Glu	Ala	Gly	Arg	Tyr	Ala	465	470	475	480

Ala	Glu	Asp	Ala	Asp	Val	Thr	Leu	Gln	Leu	His	Leu	Lys	Met	Trp	Pro	485	490	495
Asp	Leu	Gln	Lys	His	Lys	Gly	Pro	Leu	Asn	Val	Phe	Glu	Asn	Ile	Glu	500	505	510
Met	Pro	Leu	Val	Pro	Val	Leu	Ser	Arg	Ile	Glu	Arg	Asn	Gly	Val	Arg	515	520	525
Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Val	Ala	Glu	Glu	530	535	540
Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly	His	Pro	Phe	545	550	555
Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe	Asp	Glu	Leu	565	570	575
Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	Arg	Ser	Thr	580	585	590
Ser	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro	Ile	Val	Glu	595	600	605
Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser	Thr	Tyr	Ile	610	615	620
Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg	Leu	His	Thr	625	630	635
Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser	Ser	Ser	Asp	645	650	655
Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly	Gln	Arg	Ile	660	665	670
Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val	Ala	Leu	Asp	675	680	685
Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser	Gly	Asp	Glu	690	695	700
Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His	Thr	Glu	Thr	705	710	715
Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val	Asp	Pro	Leu	Met	725	730	735
Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr	Gly	Met	Ser	740	745	750

Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln  
755 760 765

Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp  
770 775 780

Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr  
785 790 795 800

Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys  
805 810 815

Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln  
820 825 830

Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro  
835 840 845

Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu  
850 855 860

Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu  
865 870 875 880

Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu  
885 890 895

Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu  
900 905 910

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 9:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 908 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

Met Arg Gly Ser His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu  
20 25 30

Leu	Val	Asp	Gly	His	His	Leu	Ala	Tyr	Arg	Thr	Phe	His	Ala	Leu	Lys
35						40						45			
Gly	Leu	Thr	Thr	Ser	Arg	Gly	Glu	Pro	Val	Gln	Ala	Val	Tyr	Gly	Phe
50						55				60					
Ala	Lys	Ser	Leu	Leu	Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Asp	Gly	Asp	Ala	Val	Ile
65				70						75				80	
Val	Val	Phe	Asp	Ala	Lys	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	His	Glu	Ala	Tyr	Gly
				85				90						95	
Gly	Tyr	Lys	Ala	Gly	Arg	Ala	Pro	Thr	Pro	Glu	Asp	Phe	Pro	Arg	Gln
		100						105				110			
Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Glu	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg	Leu
		115				120						125			
Glu	Val	Pro	Gly	Tyr	Glu	Ala	Asp	Asp	Val	Leu	Ala	Ser	Leu	Ala	Lys
130						135				140					
Lys	Ala	Glu	Lys	Glu	Gly	Tyr	Glu	Val	Arg	Ile	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys
145				150						155				160	
Asp	Leu	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg	Ile	His	Val	Leu	His	Pro	Glu
				165				170						175	
Gly	Tyr	Leu	Ile	Thr	Pro	Ala	Trp	Leu	Trp	Glu	Lys	Tyr	Gly	Leu	Arg
		180						185				190			
Pro	Asp	Gln	Trp	Ala	Asp	Tyr	Arg	Ala	Leu	Thr	Gly	Asp	Glu	Ser	Asp
		195				200						205			
Asn	Leu	Pro	Gly	Val	Lys	Gly	Ile	Gly	Glu	Lys	Thr	Ala	Arg	Lys	Leu
210						215				220					
Leu	Glu	Glu	Trp	Gly	Ser	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Lys	Asn	Leu	Asp	Arg
225				230						235				240	
Leu	Lys	Pro	Ala	Ile	Arg	Glu	Lys	Ile	Leu	Ala	His	Met	Asp	Asp	Leu
				245				250						255	
Lys	Leu	Ser	Trp	Asp	Leu	Ala	Lys	Val	Arg	Thr	Asp	Leu	Pro	Leu	Glu
		260						265				270			
Val	Asp	Phe	Ala	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Asp	Arg	Glu	Arg	Leu	Arg	Ala
		275				280						285			
Phe	Leu	Glu	Arg	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Leu	Leu	His	Glu	Phe	Gly	Leu
290						295				300					

Leu Glu Ser Pro Pro Val Gly Tyr Arg Ile Val Lys Asp Leu Val Glu  
 305 310 315 320  
 Phe Glu Lys Leu Ile Glu Lys Leu Arg Glu Ser Pro Ser Phe Ala Ile  
 325 330 335  
 Asp Leu Glu Thr Ser Ser Leu Asp Pro Phe Asp Cys Asp Ile Val Gly  
 340 345 350  
 Ile Ser Val Ser Phe Lys Pro Lys Glu Ala Tyr Tyr Ile Pro Leu His  
 355 360 365  
 His Arg Asn Ala Gln Asn Leu Asp Glu Lys Glu Val Leu Lys Lys Leu  
 370 375 380  
 Lys Glu Ile Leu Glu Asp Pro Gly Ala Lys Ile Val Gly Gln Asn Leu  
 385 390 395 400  
 Lys Phe Asp Tyr Lys Val Leu Met Val Lys Gly Val Glu Pro Val Pro  
 405 410 415  
 Pro His Phe Asp Thr Met Ile Ala Ala Tyr Leu Leu Glu Pro Asn Glu  
 420 425 430  
 Lys Lys Phe Asn Leu Asp Asp Leu Ala Leu Lys Phe Leu Gly Tyr Lys  
 435 440 445  
 Met Thr Ser Tyr Gln Glu Leu Met Ser Phe Ser Ser Pro Leu Phe Gly  
 450 455 460  
 Phe Ser Phe Ala Asp Val Pro Val Glu Lys Ala Ala Asn Tyr Ser Cys  
 465 470 475 480  
 Glu Asp Ala Asp Ile Thr Tyr Arg Leu Tyr Lys Ile Leu Ser Leu Lys  
 485 490 495  
 Leu His Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg Glu Val Glu Arg Pro  
 500 505 510  
 Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr Gly Val Arg Leu Asp  
 515 520 525  
 Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu Ile Ala  
 530 535 540  
 Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe Asn Leu  
 545 550 555 560  
 Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu Gly Leu  
 565 570 575

Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr Ser Ala  
 580 585 590  
 Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile Val Glu Lys Ile  
 595 600 605  
 Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile Asp Pro  
 610 615 620  
 Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu His Thr Arg Phe  
 625 630 635 640  
 Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp Pro Asn  
 645 650 655  
 Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile Arg Arg  
 660 665 670  
 Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp Tyr Ser  
 675 680 685  
 Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly Asp Glu Asn Leu  
 690 695 700  
 Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr Ala Ser  
 705 710 715 720  
 Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro Leu Met Arg Arg  
 725 730 735  
 Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser Ala His  
 740 745 750  
 Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln Ala Phe  
 755 760 765  
 Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp Ile Glu  
 770 775 780  
 Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr Leu Phe  
 785 790 795 800  
 Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys Ser Val  
 805 810 815  
 Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln Gly Thr  
 820 825 830  
 Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro Arg Leu  
 835 840 845

Glu	Glu	Met	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln	Val	His	Asp	Glu	Leu	Val
850			855			860									
Leu	Glu	Ala	Pro	Lys	Glu	Arg	Ala	Glu	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ala	Lys
865		870			875			880							
Glu	Val	Met	Glu	Gly	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Val	Pro	Leu	Glu	Val	Glu
885				890			895								
Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp	Trp	Leu	Ser	Ala	Lys	Glu				
900			905												

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 10:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 908 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

Met	Arg	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	Ala	Ala	Asp	Asp	Asp	Asp
1				5					10					15	
Lys	Met	Arg	Gly	Met	Leu	Pro	Leu	Phe	Glu	Pro	Lys	Gly	Arg	Val	Leu
			20					25					30		
Leu	Val	Asp	Gly	His	His	Leu	Ala	Tyr	Arg	Thr	Phe	His	Ala	Leu	Lys
		35					40					45			
Gly	Leu	Thr	Thr	Ser	Arg	Gly	Glu	Pro	Val	Gln	Ala	Val	Tyr	Gly	Phe
	50					55					60				
Ala	Lys	Ser	Leu	Leu	Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Asp	Gly	Asp	Ala	Val	Ile
65					70					75					80
Val	Val	Phe	Asp	Ala	Lys	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	His	Glu	Ala	Tyr	Gly
				85					90					95	
Gly	Tyr	Lys	Ala	Gly	Arg	Ala	Pro	Thr	Pro	Glu	Asp	Phe	Pro	Arg	Gln
			100					105					110		
Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Glu	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg	Leu
		115					120					125			

Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
 130 135 140  
 Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
 145 150 155 160  
 Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu  
 165 170 175  
 Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg  
 180 185 190  
 Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp  
 195 200 205  
 Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu  
 210 215 220  
 Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg  
 225 230 235 240  
 Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu  
 245 250 255  
 Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270  
 Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285  
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300  
 Leu Glu Ser Pro Pro Val Gly Tyr Arg Ile Val Lys Asp Leu Val Glu  
 305 310 315 320  
 Phe Glu Lys Leu Ile Glu Lys Leu Arg Glu Ser Pro Ser Phe Ala Ile  
 325 330 335  
 Asp Leu Glu Thr Ser Ser Leu Asp Pro Phe Asp Cys Asp Ile Val Gly  
 340 345 350  
 Ile Ser Val Ser Phe Lys Pro Lys Glu Ala Tyr Tyr Ile Pro Leu His  
 355 360 365  
 His Arg Asn Ala Gln Asn Leu Asp Glu Lys Glu Val Leu Lys Lys Leu  
 370 375 380  
 Lys Glu Ile Leu Glu Asp Pro Gly Ala Lys Ile Val Gly Gln Asn Leu  
 385 390 395 400



Lys	Phe	Asp	Tyr	Lys	Val	Leu	Met	Val	Lys	Gly	Val	Glu	Pro	Val	Pro	405	410	415	
Pro	His	Phe	Asp	Thr	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Leu	Leu	Glu	Pro	Asn	Glu	420	425	430	
Lys	Lys	Phe	Asn	Leu	Asp	Asp	Leu	Ala	Leu	Lys	Phe	Leu	Gly	Tyr	Lys	435	440	445	
Met	Thr	Ser	Tyr	Gln	Glu	Leu	Met	Ser	Phe	Ser	Ser	Pro	Leu	Phe	Gly	450	455	460	
Phe	Ser	Phe	Ala	Asp	Val	Pro	Val	Glu	Lys	Ala	Ala	Asn	Tyr	Ser	Cys	465	470	475	480
Glu	Asp	Ala	Asp	Ile	Thr	Tyr	Arg	Leu	Tyr	Lys	Ile	Leu	Ser	Leu	Lys	485	490	495	
Leu	His	Glu	Ala	Asp	Leu	Glu	Asn	Val	Phe	Tyr	Lys	Ile	Glu	Met	Pro	500	505	510	
Leu	Val	Ser	Val	Leu	Ala	Arg	Met	Glu	Leu	Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	515	520	525	
Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Val	Ala	Glu	Glu	Ile	Ala	530	535	540	
Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly	His	Pro	Phe	Asn	Leu	545	550	555	560
Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe	Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	565	570	575	
Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	580	585	590	
Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro	Ile	Val	Glu	Lys	Ile	595	600	605	
Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser	Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	610	615	620	
Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg	Leu	His	Thr	Arg	Phe	625	630	635	640
Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser	Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	645	650	655	
Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly	Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	660	665	670	

Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val	Ala	Leu	Asp	Tyr	Ser
675						680						685			
Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser	Gly	Asp	Glu	Asn	Leu
690						695						700			
Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	Arg	Asp	Ile	His	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser
705						710						715			
Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Ala	Val	Asp	Pro	Leu	Met	Arg	Arg
			725						730			735			
Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	Gly	Val	Leu	Tyr	Gly	Met	Ser	Ala	His
			740						745			750			
Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu	Glu	Ala	Gln	Ala	Phe
755						760						765			
Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	Ser	Phe	Pro	Lys	Val	Arg	Ala	Trp	Ile	Glu
770						775						780			
Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	Arg	Arg	Arg	Gly	Tyr	Val	Glu	Thr	Leu	Phe
785			790						795			800			
Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Pro	Asp	Leu	Glu	Ala	Arg	Val	Lys	Ser	Val
			805						810			815			
Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	Met	Ala	Phe	Asn	Met	Pro	Val	Gln	Gly	Thr
			820						825			830			
Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Met	Val	Lys	Leu	Phe	Pro	Arg	Leu
835						840						845			
Glu	Glu	Met	Gly	Ala	Arg	Met	Leu	Leu	Gln	Val	His	Asp	Glu	Leu	Val
850						855						860			
Leu	Glu	Ala	Pro	Lys	Glu	Arg	Ala	Glu	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ala	Lys
865			870						875			880			
Glu	Val	Met	Glu	Gly	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Val	Pro	Leu	Glu	Val	Glu
			885						890			895			
Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp	Trp	Leu	Ser	Ala	Lys	Glu				
			900			905									

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 11:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 949 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:

```

Met Arg Gly Ser His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp
1           5           10           15
Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu
          20           25           30
Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys
          35           40           45
Gly Leu Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe
          50           55           60
Ala Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Asp Ala Val Ile
65           70           75           80
Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Gly
          85           90           95
Gly Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln
          100          105          110
Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Leu Ala Arg Leu
          115          120          125
Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys
          130          135          140
Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys
145          150          155          160
Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu
          165          170          175
Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg
          180          185          190
Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp
          195          200          205

```

## 30

Asn	Leu	Pro	Gly	Val	Lys	Gly	Ile	Gly	Glu	Lys	Thr	Ala	Arg	Lys	Leu
210						215					220				
Leu	Glu	Glu	Trp	Gly	Ser	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Lys	Asn	Leu	Asp	Arg
225					230					235					240
Leu	Lys	Pro	Ala	Ile	Arg	Glu	Lys	Ile	Leu	Ala	His	Met	Asp	Asp	Leu
				245					250					255	
Lys	Leu	Ser	Trp	Asp	Leu	Ala	Lys	Val	Arg	Thr	Asp	Leu	Pro	Leu	Glu
			260					265					270		
Val	Asp	Phe	Ala	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Asp	Arg	Glu	Arg	Leu	Arg	Ala
		275					280					285			
Phe	Leu	Glu	Arg	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Leu	Leu	His	Glu	Phe	Gly	Leu
	290						295				300				
Leu	Glu	Ser	Pro	His	Pro	Ala	Val	Val	Asp	Ile	Phe	Glu	Tyr	Asp	Ile
305					310					315					320
Pro	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Leu	Ile	Asp	Lys	Gly	Leu	Ile	Pro	Met	Glu
				325					330					335	
Gly	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Ile	Leu	Ala	Phe	Asp	Ile	Glu	Thr	Leu	Tyr
			340					345					350		
His	Glu	Gly	Glu	Glu	Phe	Gly	Lys	Gly	Pro	Ile	Ile	Met	Ile	Ser	Tyr
		355					360					365			
Ala	Asp	Glu	Asn	Glu	Ala	Lys	Val	Ile	Thr	Trp	Lys	Asn	Ile	Asp	Leu
	370					375					380				
Pro	Tyr	Val	Glu	Val	Val	Ser	Ser	Glu	Arg	Glu	Met	Ile	Lys	Arg	Phe
385					390					395					400
Leu	Arg	Ile	Ile	Arg	Glu	Lys	Asp	Pro	Asp	Ile	Ile	Val	Thr	Tyr	Asn
				405					410					415	
Gly	Asp	Ser	Phe	Asp	Phe	Pro	Tyr	Leu	Ala	Lys	Arg	Ala	Glu	Lys	Leu
			420					425					430		
Gly	Ile	Lys	Leu	Thr	Ile	Gly	Arg	Asp	Gly	Ser	Glu	Pro	Lys	Met	Gln
		435				440						445			
Arg	Ile	Gly	Asp	Met	Thr	Ala	Val	Glu	Val	Lys	Gly	Arg	Ile	His	Phe
	450					455					460				
Asp	Leu	Tyr	His	Val	Ile	Thr	Arg	Thr	Ile	Asn	Leu	Pro	Thr	Tyr	Thr
465					470					475					480

Leu	Glu	Ala	Val	Tyr	Glu	Ala	Ile	Phe	Gly	Lys	Pro	Lys	Glu	Lys	Val	485	490	495	
Tyr	Ala	Asp	Glu	Ile	Ala	Lys	Ala	Trp	Glu	Ser	Gly	Glu	Asn	Leu	Glu	500	505	510	
Arg	Val	Ala	Lys	Tyr	Ser	Met	Glu	Asp	Ala	Lys	Ala	Thr	Tyr	Glu	Leu	515	520	525	
Gly	Lys	Glu	Phe	Leu	Pro	Met	Glu	Ile	Gln	Leu	Ser	Glu	Arg	Leu	Leu	530	535	540	
Trp	Leu	Tyr	Arg	Glu	Val	Glu	Arg	Pro	Leu	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	His	545	550	555	560
Met	Glu	Ala	Thr	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	565	570	575	
Ser	Leu	Glu	Val	Ala	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	580	585	590	
Arg	Leu	Ala	Gly	His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	595	600	605	
Arg	Val	Leu	Phe	Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	610	615	620	
Lys	Thr	Gly	Lys	Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	625	630	635	640
Glu	Ala	His	Pro	Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	645	650	655	
Lys	Leu	Lys	Ser	Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	660	665	670	
Arg	Thr	Gly	Arg	Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	675	680	685	
Gly	Arg	Leu	Ser	Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	690	695	700	
Thr	Pro	Leu	Gly	Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	705	710	715	720
Trp	Leu	Leu	Val	Ala	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	725	730	735	
Ala	His	Leu	Ser	Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	Gly	740	745	750	

## 32

Arg Asp Ile His Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg  
 755 760 765  
 Glu Ala Val Asp Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe  
 770 775 780  
 Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala  
 785 790 795 800  
 Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser  
 805 810 815  
 Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg  
 820 825 830  
 Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro  
 835 840 845  
 Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met  
 850 855 860  
 Ala Phe Asn Met Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu  
 865 870 875 880  
 Ala Met Val Lys Leu Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met  
 885 890 895  
 Leu Leu Gln Val His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg  
 900 905 910  
 Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr  
 915 920 925  
 Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp  
 930 935 940  
 Leu Ser Ala Lys Glu  
 945

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 12:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 982 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

## 33

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:

Met	Arg	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	Ala	Ala	Asp	Asp	Asp	Asp	1	5	10	15
Lys	Met	Arg	Gly	Met	Leu	Pro	Leu	Phe	Glu	Pro	Lys	Gly	Arg	Val	Leu	20	25	30	
Leu	Val	Asp	Gly	His	His	Leu	Ala	Tyr	Arg	Thr	Phe	His	Ala	Leu	Lys	35	40	45	
Gly	Leu	Thr	Thr	Ser	Arg	Gly	Glu	Pro	Val	Gln	Ala	Val	Tyr	Gly	Phe	50	55	60	
Ala	Lys	Ser	Leu	Leu	Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Asp	Gly	Asp	Ala	Val	Ile	65	70	75	80
Val	Val	Phe	Asp	Ala	Lys	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	His	Glu	Ala	Tyr	Gly	85	90	95	
Gly	Tyr	Lys	Ala	Gly	Arg	Ala	Pro	Thr	Pro	Glu	Asp	Phe	Pro	Arg	Gln	100	105	110	
Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Glu	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg	Leu	115	120	125	
Glu	Val	Pro	Gly	Tyr	Glu	Ala	Asp	Asp	Val	Leu	Ala	Ser	Leu	Ala	Lys	130	135	140	
Lys	Ala	Glu	Lys	Glu	Gly	Tyr	Glu	Val	Arg	Ile	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	145	150	155	160
Asp	Leu	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg	Ile	His	Val	Leu	His	Pro	Glu	165	170	175	
Gly	Tyr	Leu	Ile	Thr	Pro	Ala	Trp	Leu	Trp	Glu	Lys	Tyr	Gly	Leu	Arg	180	185	190	
Pro	Asp	Gln	Trp	Ala	Asp	Tyr	Arg	Ala	Leu	Thr	Gly	Asp	Glu	Ser	Asp	195	200	205	
Asn	Leu	Pro	Gly	Val	Lys	Gly	Ile	Gly	Glu	Lys	Thr	Ala	Arg	Lys	Leu	210	215	220	
Leu	Glu	Glu	Trp	Gly	Ser	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Lys	Asn	Leu	Asp	Arg	225	230	235	240
Leu	Lys	Pro	Ala	Ile	Arg	Glu	Lys	Ile	Leu	Ala	His	Met	Asp	Asp	Leu	245	250	255	

Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270  
 Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285  
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300  
 Leu Glu Ser Pro Val Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile Phe Glu  
 305 310 315 320  
 Tyr Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile  
 325 330 335  
 Pro Met Glu Gly Glu Glu Glu Leu Lys Ile Leu Ala Phe Asp Ile Glu  
 340 345 350  
 Thr Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Lys Gly Pro Ile Ile Met  
 355 360 365  
 Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Asn Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp Lys Asn  
 370 375 380  
 Ile Asp Leu Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu Met Ile  
 385 390 395 400  
 Lys Arg Phe Leu Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Ile Ile Val  
 405 410 415  
 Thr Tyr Asn Gly Asp Ser Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Ala Lys Arg Ala  
 420 425 430  
 Glu Lys Leu Gly Ile Lys Leu Thr Ile Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro  
 435 440 445  
 Lys Met Gln Arg Ile Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Val Lys Gly Arg  
 450 455 460  
 Ile His Phe Asp Leu Tyr His Val Ile Thr Arg Thr Ile Asn Leu Pro  
 465 470 475 480  
 Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys Pro Lys  
 485 490 495  
 Glu Lys Val Tyr Ala Asp Glu Ile Ala Lys Ala Trp Glu Ser Gly Glu  
 500 505 510  
 Asn Leu Glu Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Ala Thr  
 515 520 525



Tyr	Glu	Leu	Gly	Lys	Glu	Phe	Leu	Pro	Met	Glu	Ile	Gln	Leu	Ser	Arg	530	535	540
Leu	Val	Gly	Gln	Pro	Leu	Trp	Asp	Val	Ser	Arg	Ser	Ser	Thr	Gly	Asn	545	550	555
Leu	Val	Glu	Trp	Phe	Leu	Leu	Arg	Lys	Ala	Tyr	Glu	Arg	Asn	Glu	Val	565	570	575
Ala	Pro	Asn	Lys	Pro	Ser	Glu	Glu	Glu	Tyr	Gln	Arg	Arg	Leu	Arg	Glu	580	585	590
Ser	Tyr	Thr	Gly	Gly	Phe	Val	Arg	Leu	Asp	Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	595	600	605
Leu	Ser	Leu	Glu	Val	Ala	Glu	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	610	615	620
Phe	Arg	Leu	Ala	Gly	His	Pro	Phe	Asn	Leu	Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	625	630	635
Glu	Arg	Val	Leu	Phe	Asp	Glu	Leu	Gly	Leu	Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	645	650	655
Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	660	665	670
Arg	Glu	Ala	His	Pro	Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	675	680	685
Thr	Lys	Leu	Lys	Ser	Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	690	695	700
Pro	Arg	Thr	Gly	Arg	Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	705	710	715
Thr	Gly	Arg	Leu	Ser	Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	725	730	735
Arg	Thr	Pro	Leu	Gly	Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	740	745	750
Gly	Trp	Leu	Leu	Val	Ala	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	755	760	765
Leu	Ala	His	Leu	Ser	Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	770	775	780
Gly	Arg	Asp	Ile	His	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro	785	790	795

Arg	Glu	Ala	Val	Asp	Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn			
				805					810					815				
Phe	Gly	Val	Leu	Tyr	Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu			
			820					825					830					
Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu	Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln			
		835					840					845						
Ser	Phe	Pro	Lys	Val	Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly			
	850					855					860							
Arg	Arg	Arg	Gly	Tyr	Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val			
865					870					875					880			
Pro	Asp	Leu	Glu	Ala	Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg			
				885					890					895				
Met	Ala	Phe	Asn	Met	Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys			
			900					905					910					
Leu	Ala	Met	Val	Lys	Leu	Phe	Pro	Arg	Leu	Glu	Glu	Met	Gly	Ala	Arg			
		915					920					925						
Met	Leu	Leu	Gln	Val	His	Asp	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Ala	Pro	Lys	Glu			
	930					935					940							
Arg	Ala	Glu	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Met	Glu	Gly	Val			
945					950					955					960			
Tyr	Pro	Leu	Ala	Val	Pro	Leu	Glu	Val	Glu	Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp			
			965						970					975				
Trp	Leu	Ser	Ala	Lys	Glu													
			980															

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 13:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 66 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: Sonstige Nucleinsäure

- (A) BESCHREIBUNG: /desc = "oligonucleotide"

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LAGE:1..66

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

GAA TTC ATG AGG GGC TCG CAT CAC CAT CAC CAT CAC GCT GCT GAC GAT  
48

GAC GAT AAA ATG AGG GGC  
66

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 14:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 20 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 14:

Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

Lys Met Arg Gly  
20

**Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)**

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.   
 weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr. 17   
 weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich  
 siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.   
 weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

**Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)**

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/SA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 17

Im Sequenzprotokoll fehlen Angaben zu SEQ ID NO: 17. Deshalb konnte keine Recherche durchgeführt werden.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zu derselben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

P 99/01674

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0482714 A		CS 9103242 A	13-05-1992
		DE 69118809 D	23-05-1996
		DE 69118809 T	26-09-1996
		DK 482714 T	13-05-1996
		ES 2086479 T	01-07-1996
		JP 2032104 C	19-03-1996
		JP 5130871 A	28-05-1993
		JP 7059195 B	28-06-1995
		KR 9405592 B	21-06-1994
		SG 52453 A	28-09-1998

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung:

zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

T/EP 99/01674

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 0892058	A	20-01-1999	CA	2240570 A	09-01-1999
WO 9729209	A	14-08-1997	KEINE		
US 5466591	A	14-11-1995	US	5079352 A	07-01-1992
			US	4889818 A	26-12-1989
			US	5322770 A	21-06-1994
			US	5795762 A	18-08-1998
			AT	181106 T	15-06-1999
			AU	691374 B	14-05-1998
			AU	4086896 A	26-04-1996
			AU	663474 B	12-10-1995
			AU	8668891 A	28-04-1992
			CA	2090614 A	29-03-1992
			DE	69131321 D	15-07-1999
			EP	0550687 A	14-07-1993
			EP	0894860 A	03-02-1999
			JP	10004985 A	13-01-1998
			JP	10004965 A	13-01-1998
			JP	10000095 A	06-01-1998
			JP	2709311 B	04-02-1998
			WO	9206200 A	16-04-1992
			US	5405774 A	11-04-1995
			US	5455170 A	03-10-1995
			US	5674738 A	07-10-1997
			AU	658378 B	13-04-1995
			AU	8907791 A	28-04-1992
			CA	2092317 A	29-03-1992
			EP	0550696 A	14-07-1993
			JP	2582980 B	19-02-1997
			JP	6504196 T	19-05-1994
			WO	9206202 A	16-04-1992
			US	5310652 A	10-05-1994
			US	5618703 A	08-04-1997
			US	5641864 A	24-06-1997
			US	5693517 A	02-12-1997
			US	5561058 A	01-10-1996
			AT	135741 T	15-04-1996
			AU	3062989 A	11-08-1989
			AU	632857 B	14-01-1993
			AU	6391090 A	10-01-1991
			DE	68926038 D	25-04-1996
			DE	68926038 T	17-10-1996
			EP	0395736 A	07-11-1990
			HK	166096 A	13-09-1996
			IE	72180 B	26-03-1997
			IL	88923 A	31-07-1995
			JP	2511548 B	26-06-1996
			JP	3502165 T	23-05-1991
			SG	46657 A	20-02-1998
			US	5407800 A	18-04-1995
			WO	8906691 A	27-07-1989
			US	5618711 A	08-04-1997
			US	5789224 A	04-08-1998
EP 0482714	A	29-04-1992	AT	136932 T	15-05-1996
			AU	8469091 A	07-05-1992
			CA	2052827 A	27-04-1992

## Polymerasenchimären

---

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Polymerasenchimären, die aus Aminosäurefragmenten, die Domänen repräsentieren, bestehen und die - im Hinblick auf eine bestimmte Verwendung - vorteilhafte Eigenschaften von natürlich vorkommenden Polymerasen in sich vereinen. Überraschenderweise konnte gezeigt werden, daß die Domänen aus den unterschiedlichen Enzymen in der Chimäre aktiv sind und ein kooperatives Verhalten zeigen. Insbesondere sind solche Polymerasen-Chimären Gegenstand der vorliegenden Erfindung, bei denen die Polymeraseaktivität aufweisende Domäne und die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne aus verschiedenen Enzymen stammen. Derartige Chimären können zusätzlich RT-Aktivität aufweisen. Weiterhin ist Gegenstand der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Chimären sowie die Verwendung dieser Chimären bei der Synthese von Nukleinsäuren z.B. während der Polymerase-Ketten-Reaktion. Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Kit, der die erfindungsgemäßen Polymerasenchimären enthält.

Nach Braithwaite, D.K. und Ito, J. (1993) Nucl. Acids Res. 21, 787-802 werden die DNA Polymerasen nach den Übereinstimmungen in ihren Aminosäuresequenzen in drei Hauptfamilien mit Unterklassen eingeteilt. Eine Zusammenfassung der gefundenen Motive und konservierten Aminosäuren geben Joyce, C.M. und Steitz, T.A. (1994) Annu. Rev. Biochem. 63, 777-822. In Prokaryoten werden hauptsächlich drei Polymerasen unterschieden: Polymerase I, II und III. Diese Polymerasen unterscheiden sich untereinander bezüglich ihrer Funktion in der Zelle und bezüglich ihrer Eigenschaften. Die DNA Polymerase I gilt als Reparaturenzym, besitzt häufig sowohl 5'-3'- als auch 3'-5'- Exonukleaseaktivität. Polymerase II scheint die DNA Synthese zu erleichtern, die von einem beschädigten Matrizenstrang ausgeht und bewahrt daher Mutationen. Die Polymerase III ist das Replikationsenzym der Zelle, sie synthetisiert Nukleotide mit hoher Geschwindigkeit (ca. 30.000 per Minute) und gilt als sehr prozessiv. Polymerase III besitzt keine 5'-3'-Exonukleaseaktivität. Andere Eigenschaften von Polymerasen werden bedingt durch ihre Herkunft wie z.B. die Thermostabilität oder auch die Prozessivität.

Je nach Anwendung sind bestimmte Eigenschaften von Polymerasen wünschenswert. Für die PCR z.B. werden thermostabile, fidele - d.h. Polymerasen mit proofreading-Aktivität - prozessive



und schnellsynthetisierende Polymerasen bevorzugt. Bei der Sequenzierung werden Enzyme bevorzugt, die wenig zwischen Dideoxy- und Deoxy-Nukleotiden diskriminieren. Die Proofreading-Aktivität der Polymerasen hingegen, d.h. 3'-5'- Exonukleaseaktivität, ist bei der Sequenzierung nicht wünschenswert. Für manche Anwendungen, z.B. PCR, ist es wünschenswert, wenn die Polymerase keine oder wenig 5'-3'- Exonukleaseaktivität (5'-Nukleaseaktivität) aufweist.

Polymerasen können sich weiterhin unterscheiden in ihrer Fähigkeit RNA als Template zu akzeptieren, d.h. bezüglich ihrer Reversen Transkriptasen (RT) -Aktivität. Die RT-Aktivität kann von der Gegenwart an Mangan- und/oder Magnesium-Ionen abhängig sein. Oftmals ist es wünschenswert, wenn die RT-Aktivität der Polymerase von Mangan-Ionen – unabhängig ist, weil die Lesegenauigkeit der Polymerase in Gegenwart von Mangan – Ionen sinkt. Polymerasen unterscheiden sich weiterhin in ihrer Prozessivität, die ebenfalls eine für viele Anwendungen wünschenswerte Eigenschaft darstellt.

Es besteht daher das Bedürfnis, Polymerasen bezüglich ihrer Eigenschaften im Hinblick auf eine bestimmte Anwendung zu optimieren. Dies wurde in der Vergangenheit oftmals durch das Einführen von Mutationen oder durch Deletion von Funktionen der Polymerasen erreicht.

So wurde z.B. das Ausschalten der 5'-3'- Exonukleaseaktivität sowohl durch das Einführen von Mutationen (Merkens, L. S. (1995) *Biochem. Biophys. Acta* 1264, 243-248) als auch durch Verkürzung erreicht (Jacobsen, H. (1974) *Eur. J. Biochem.* 45, 623-627; Barnes, W. M. (1992) *Gene* 112, 29-35). Die Diskriminierungsfähigkeit der Polymerasen gegenüber Dideoxy- und Deoxy-Nukleotiden wurde durch das Einführen von Punktmutationen herabgesetzt (Tabor S. und Richardson, C. C. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 92, 6339-6343). Tabor und Richardson beschreiben die Konstruktion von Active-site-Hybriden.

Die Aufgabe, Polymerasen mit optimierten Eigenschaften bereitzustellen, wurde durch die vorliegende Erfindung erstmals durch das Herstellen von Polymerasenchimären durch den Austausch strukturell und funktionell voneinander unabhängiger Domänen gelöst. Als Domäne im Sinne der vorliegenden Erfindung sind Bereiche zu verstehen, die alle essentiellen Zentren bzw. alle funktionell wichtigen Aminosäuren enthalten, so daß die Domäne ihre Funktion im wesentlichen behält. Es können daher auch nur Teile, d.h. funktionierende Fragmente von Domänen ausgetauscht werden. So können diese Domänen im Sinne der vorliegenden Erfindung als funktionelle Aminosäurefragmente bezeichnet werden. Die Chimäre kann darüber hinaus durch Mutationen oder Verkürzungen weiter verändert werden. Falls es vorteilhaft erscheint, können

in die Chimäre Mutationen eingeführt werden, die ihre Eigenschaften im Hinblick auf die jeweilige Anwendung weiter optimieren. So können beispielsweise Mutationen eingeführt werden, die die Diskriminierungsfähigkeit der Polymerasen gegenüber Dideoxy- und Deoxy-Nukleotiden herabsetzt. Oder es können durch die Einführung von Mutationen oder durch Verkürzung erwünschte Eigenschaften wie z. B. die Prozessivität verstärkt oder eingeführt werden. Es können aber auch durch die Einführung von Mutationen oder durch Verkürzungen unerwünschte Eigenschaften ausgeschaltet werden, z.B. die 5'-Nukleaseaktivität.

Und somit sind Polymerasenchimären Gegenstand der vorliegenden Erfindung, die - im Hinblick auf eine bestimmte Verwendung - vorteilhafte Eigenschaften von natürlich vorkommenden Polymerasen in sich vereinen. Die erfindungsgemäßen Polymerasenchimären bestehen aus funktionellen Aminosäurefragmenten unterschiedlicher Enzyme, die vorzugsweise Domänen unterschiedlicher Enzyme repräsentieren. Überraschenderweise konnte gezeigt werden, daß die Domänen aus den unterschiedlichen Enzymen in der Chimäre aktiv sind und ein kooperatives Verhalten der Domänen untereinander zeigen. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind weiterhin generelle Verfahren zur Herstellung von Polymerasenchimären mit optimierten Eigenschaften. Durch diese erfindungsgemäßen Verfahren werden somit das Design einer Chimären aus einer beliebigen Kombinationen von Enzymen möglich, indem Domänen ausgetauscht werden. Weiterhin ist bevorzugt, daß die Wechselwirkungen in den Kontaktstellen der Domänen durch verschiedene Verfahren noch weiter aufeinander abgestimmt werden. Dadurch kann beispielsweise die Thermostabilität der Chimären erhöht werden. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Kit zur Synthese von Nukleinsäuren, der eine erfindungsgemäße Chimäre enthält.

Für die PCR werden in der Praxis zunehmend thermostabile DNA Polymerasen mit Korrekturlesefunktion eingesetzt. Zur Amplifikation langer DNA Moleküle hat sich insbesondere das Einsetzen von Mischungen aus *Taq* Polymerase und thermostabiler Korrekturlese-DNA Polymerase (wie *Pfu*, *Pwo*, *Vent* Polymerase) bewährt. Es war daher weiterhin Gegenstand der vorliegenden Erfindung, die hohe Prozessivität und Thermostabilität der *Taq* Polymerase mit der 3'-5'-Exonukleaseaktivität einer anderen DNA Polymerase in einem Enzym zu vereinen. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher insbesondere thermostabile Polymerasenchimäre, die eine Prozessivität aufweisen, die mindestens der der *Taq* Polymerase entspricht, sowie eine geringe Fehlerrate beim Einbau der Nukleotide in die Polymerkette während der Amplifikation aufweisen durch das Vorhandensein einer 3'-5'-Exonuklease-Aktivität (Proofreading-Aktivität). Durch die Kombination dieser beiden Eigenschaften kann beispielsweise eine Chimäre generiert werden, die in der Lage ist, lange PCR Produkte zu machen, d.h. Nukleinsäurefragmente die größer

sind als 2 kb. Die erfindungsgemäße Chimäre eignet sich ebenfalls für die Vervielfältigung kürzerer Fragmente.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher insbesondere eine Polymerasenchimäre, die zusammengesetzt ist aus funktionellen Aminosäurefragmenten von zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die erste oder die zweite der Polymerasen 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweist und die Polymerasenchimäre sowohl 5'-3'-Polymeraseaktivität als auch 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweist. Die Polymerasen können natürlich vorkommende oder rekombinante Polymerasen sein. Die erfindungsgemäße Polymerasenchimäre kann aus funktionellen Aminosäurefragmenten von zwei oder mehr unterschiedlichen Polymerasen zusammengesetzt sein. Die erfindungsgemäße Polymerasenchimäre kann aus zwei oder mehreren funktionellen Aminosäurefragmenten der unterschiedlichen Polymerasen zusammengesetzt sein. Die Aminosäuresequenz des Fragmentes kann der natürlich vorkommenden Sequenz der Polymerase oder einer durch Mutationen veränderten Sequenz entsprechen.

Die Aminosäurefragmente, aus denen die Polymerasenchimäre zusammengesetzt ist, entsprechen bevorzugterweise jeweils funktionalen Polymerasendomänen der ersten oder zweiten Polymerase. Eine funktionale Polymerasendomäne im Sinne der vorliegenden Erfindung ist ein Bereich, der alle für die Aktivität essentiellen Aminosäuren beinhaltet, und wird in folgendem kurz Domäne genannt.

Insbesondere ist Gegenstand der vorliegenden Erfindung eine Polymerasenchimäre zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten (hier kurz Domänen) von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die Polymeraseaktivität aufweisende Domäne homolog ist zu einer Polymerase und die 3'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne homolog ist zu einer anderen Polymerase. Des weiteren kann diese Chimäre noch 5'-Exonukleaseaktivität aufweisen, wobei die 5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne homolog zur ersten oder zur zweiten Polymerase sein kann. Jedoch ist es auch möglich, daß die 5'-Exonukleasedomäne teilweise oder vollständig deletiert ist bzw. Punktmutationen aufweist. Die erfindungsgemäße Polymerasenchimäre kann des weiteren Reverse Transkriptase (RT) Aktivität aufweisen.

Bevorzugt ist weiterhin, daß ein Teil der Aminosäurefragmente der Polymerasenchimären einem Teil der Aminosäuresequenz der Taq-Polymerase entspricht.

Die Polymerase, deren 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne bzw. Aminosäurefragment in die Chimäre eingebaut wurde, kann beispielsweise eine Pol-I-Typ-Polymerase oder auch eine Pol-II-Typ-Polymerase sein. Vertreter der Pol-I-Typ-Polymerase mit 3'-5'-Exonukleaseaktivität sind z.B. *Escherichia coli* Polymerase I (Ec.I), *Salmonella* Polymerase I, *Bacillus* Polymerase I, *Thermosiphon* Polymerase I sowie die *Thermotoga neapolitana* Polymerase (Tne). Vertreter der Pol-II-Typ-Polymerase mit 3'-5'-Exonukleaseaktivität sind z.B. die *Pyrococcus woesei* Polymerase (Pwo), *Pyrococcus furiosus* Polymerase (Pfu), *Thermococcus litoralis* Polymerase (Tli), *Pyrodictum abyssi*.

Im folgenden wird auf die beispielhaft genannten Vertreter der Pol-I-Typ und Pol-II-Typ Polymerasen näher eingegangen:

Die *Taq* DNA Polymerase aus *Thermus aquaticus* (*Taq* Polymerase), die *Escherichia coli* DNA Polymerase I (*E. coli* polI) und die *Thermotoga neapolitana* DNA Polymerase (*Tne* Polymerase) sind bakterielle DNA Polymerasen der Familie A. Es sind DNA Polymerasen vom polI-Typ, da die verschiedenen enzymatischen Aktivitäten in relativ gleicher Weise in verschiedenen Domänen lokalisiert sind wie bei der *E. coli* polI. Die *Pyrococcus woesei* DNA Polymerase (*Pwo* Polymerase) ist, wie die *Thermococcus litoralis* DNA Polymerase (*Vent*<sup>TM</sup> Polymerase) und die *Pyrococcus furiosus* DNA Polymerase (*Pfu* Polymerase), eine archaebakterielle DNA Polymerase der Familie B.

Die *Taq* Polymerase ist beschrieben von Chien, A. et al. (1976) J. Bacteriol. 127, 1550-1557, Kaledin, A.S. et al. (1980) Biokhimiya 45, 644-651 und Lawyer, F.C et al. (1989) J. Biol. Chem. 264, 6427-6437. Ursprünglich wurde sie aus dem thermophilen Eubakterium *Thermus aquaticus* isoliert, später in *E. coli* kloniert. Das Enzym hat ein Molekulargewicht von 94 kDa und ist als Monomer aktiv. Die *Taq* Polymerase ist geeignet zum Einsatz in der Polymerasekettenreaktion (PCR), da sie eine hohe Thermostabilität (Halbwertszeit von 40 Minuten bei 95°C / 5 Minuten bei 100°C) und eine hoch prozessive 5'-3'-DNA-Polymerase (Polymerisationsrate: 75 Nukleotide pro Sekunde) aufweist. Neben der Polymeraseaktivität wurde von Longley et al. (1990) Nucl. Acids Res. 18, 7317-7322 eine 5'-Nukleaseaktivität nachgewiesen. Das Enzym zeigt keine 3'-5'-Exonukleaseaktivität, so daß beim Einbau der vier Desoxyribonukleotidtriphosphate zur sukzessiven Verlängerung von Polynukleotidketten Fehler entstehen, die bei der Genamplifikation stören (Fehlerrate:  $2 \times 10^{-4}$  Fehler/Base, Cha, R. S. und Thilly, W. G. (1993) PCR Methods Applic. 3, 18-29). Die Tertiärstruktur der *Taq* Polymerase ist seit 1995 bekannt (Kim et al., 1995, Korolev et al., 1995).

Die *E. coli* poll ist beschrieben in Kornberg, A. und Baker, T. A. (1992) DNA Replication, 2. Aufl., Freeman, New York, 113-165. Das Enzym hat ein Molekulargewicht von 103 kDa und ist als Monomer aktiv. Die *E. coli* poll besitzt 5'-Nuklease- und 5'-3'-DNA-Polymeraseaktivität. Im Gegensatz zur *Taq* Polymerase besitzt sie zusätzlich eine 3'-5'-Exonukleaseaktivität als Korrekturfunktion. Die *E. coli* poll und deren Klenow Fragment (Jacobsen, H. et al. (1974) Eur. J. Biochem. 45, 623-627) wurden vor der Einführung der *Taq* Polymerase für die PCR eingesetzt. Aufgrund ihrer geringen Thermostabilität sind sie jedoch weniger gut geeignet, da sie jeden Zyklus neu zugesetzt werden müssen. Die Tertiärstruktur des Klenow Fragmentes der *E. coli* poll ist seit 1983 bekannt (Brick, P. et al. (1983) J. Mol. Biol. 166, 453-456, Ollis, D.L. et al. (1985) Nature 313, 762-766 und Beese, L.S. et al. (1993) Science 260, 352-355).

Die *Tne* Polymerase wurde aus dem thermophilen Eubakterium *Thermotoga neapolitana* isoliert und später in *E. coli* kloniert. Die Aminosäuresequenz der *Tne* Polymerase ist der *Thermotoga maritima* DNA Polymerase (UITma<sup>TM</sup> Polymerase) ähnlich (persönliche Auskunft Dr. B. Frey). Sie weist hohe Thermostabilität, 5'-Nukleaseaktivität, 3'-5'-Exonukleaseaktivität und 5'-3'-DNA-Polymeraseaktivität auf. Ein Nachteil ist die geringere Polymerisationsrate verglichen mit der *Taq* Polymerase. Die in der Aminosäuresequenz ähnliche UITma<sup>TM</sup> Polymerase wird für die PCR verwendet, wenn hohe Genauigkeit benötigt wird. Von der Struktur der *Tne* Polymerase ist bisher nur die Aminosäuresequenz bekannt (Boehringer Mannheim). Das Enzym ist jedoch homolog zur *E. coli* poll, so daß, obwohl die Tertiärstruktur nicht bekannt ist, die Möglichkeit des Homologiemodelling besteht.

Die *Pfu* Polymerase wurde aus dem hyperthermophilen, marinen Archaeobakterium *Pyrococcus furiosus* isoliert. Sie weist hohe Thermostabilität (95% Aktivität nach einer Stunde bei 95°C), 3'-5'-Exonukleaseaktivität und 5'-3'-DNA-Polymeraseaktivität auf (Lundberg, K. S. et al. (1991) Gene 108, 1-6). Die Genauigkeit der DNA-Synthese ist ca. zehnmal höher als bei der *Taq* Polymerase. Sie wird für die PCR verwendet, wenn hohe Genauigkeit benötigt wird. Von der Struktur ist bisher nur die Aminosäuresequenz bekannt.

Die *Pwo* Polymerase (PCR Applications Manual (1995), Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica, 28-32) wurde ursprünglich aus dem hyperthermophilen Archaeobakterium *Pyrococcus woesei* isoliert und später in *E. coli* kloniert. Das Enzym hat ein Molekulargewicht von etwa 90 kDa und ist als Monomer aktiv. Die *Pwo* Polymerase besitzt eine höhere Thermostabilität als die *Taq* Polymerase (Halbwertszeit > 2 Stunden bei 100°C), eine hoch prozessive 5'-3'-DNA-Polymeraseaktivität und eine hohe 3'-5'-Exonukleaseaktivität, wodurch die Genauigkeit der DNA-Syn-

these erhöht wird. Das Enzym hat keine 5'-Nukleaseaktivität. Die Polymerisationsrate (30 Nukleotide pro Sekunde) ist geringer als bei der *Taq* Polymerase. Das Enzym wird in der PCR eingesetzt, wenn hohe Genauigkeit gefordert ist. Die Genauigkeit der DNA-Synthese ist mehr als 10 mal höher als bei Verwendung der *Taq* Polymerase.

Die Ath-Polymerase wurde aus dem thermophilen Archaeobakterium *Anaerocellum thermophilum* isoliert und später in *E.coli* kloniert. Die Ath-Polymerase weist hohe Thermostabilität auf und weist nach einer Inkubation von 30 min bei 80°C in Abwesenheit von stabilisierenden Detergentien wenigstens noch 90% der ursprünglichen Aktivität auf. Die Polymerase weist weiterhin RT-Aktivität in Gegenwart von Magnesium-Ionen auf. Ath-Polymerase ist hinterlegt bei der deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, D38124 Braunschweig DSM Accession Nr. 8995. Die Ath-Polymerase weist 5'-3'-Polymeraseaktivität, 5'-3'-Exonukleaseaktivität aber keine 3'-5'-Exonukleaseaktivität auf.

In die Aminosäuresequenz der Polymerasenchimären können weiterhin Histidin-tags oder andere Reinigungshilfen für die verbesserte Aufreinigung eingebaut sein.

Zum Einfügen einer 3'-5'-Exonukleaseaktivität eine Polymerase in eine andere beispielsweise in die *Taq* Polymerase gibt es hauptsächlich vier Verfahren, die ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind:

1. Das Einfügen des 3'-5'-Exonukleasebereiches einer anderen DNA Polymerase durch Austausch eines Molekülbereichs der *Taq* Polymerase.

Dieser Ansatz ist insbesondere geeignet, da die *Taq* Polymerase homolog zur *E. coli* polI ist, die aus funktionell und strukturell voneinander unabhängigen Domänen besteht (Joyce, C.M. und Steitz, T.A. (1987) TIBS 12, 288-292) und als Modell für andere DNA Polymerasen dienen kann (Joyce, C.M. (1991) Curr. Opin. Struct. Biol. 1, 123-129). Geeignet für den Austausch sind DNA Polymerasen, bei denen eine 3'-5' Exonukleaseaktivität nachgewiesen ist, deren DNA-Sequenz bekannt ist und das für die 3'-5'-Exonukleaseaktivität kodierende Gen zugänglich ist. Für ein rationales Proteindesign anhand von Modellstrukturen ist es zusätzlich von Vorteil, daß der 3'-5'-Exonukleasebereich und der Polymerasebereich zur *E. coli* polI homolog ist. Der 3'-5'-Exonukleasebereich sollte sich vorzugsweise gut in die Struktur der *E. coli* polI einfügen und an den Polymerasebereich der *Taq* Polymerase anfügen. Eine aufgeklärte Tertiärstruktur mit zugänglichen Strukturdaten sowie hohe Thermostabilität des Proteins sind weitere Vorteile.

Folgende DNA Polymerasen sind daher beispielsweise geeignet:

a. *E. coli* polI

Die *E. coli* polI erfüllt, bis auf die Thermostabilität, alle oben aufgeführten Bedingungen. Die Tertiärstruktur des Klenow Fragmentes ist in der Brookhavendatenbank zugänglich und sie gehört, wie die *Taq* Polymerase, zur Familie A der DNA Polymerasen. Die Identität in der Aminosäuresequenz beträgt 32%. Bei Berücksichtigung der bekannten Domänenstruktur finden sich die größten Übereinstimmungen im N-terminalen und im C-terminalen Bereich der beiden Proteine (32 % Identität in den 5'-Nukleasedomänen, 49% Identität in den Polymerasedomänen). Im Bereich der 3'-5'-Exonukleasedomäne weist die kürzere *Taq* Polymerase mehrere Deletionen auf (14% Identität in 3'-5'-Exonukleasedomäne und Zwischendomäne). Da die *E. coli* polI thermolabil ist und die Wechselwirkungen an der Grenzfläche zwischen den beiden Domänen im chimären Protein nicht mehr optimal sind, ist es wahrscheinlich, daß auch die Proteinchimäre geringere Thermostabilität als die *Taq* Polymerase aufweist. Diese kann durch nachträgliche Modifizierung von Aminosäuren an der Grenzfläche behoben werden.

b. Thermostabile DNA Polymerasen

Von den thermostabilen DNA Polymerasen mit 3'-5'-Exonuklease, die heute zur PCR eingesetzt werden, scheinen die *Pwo* Polymerase, die *Pfu* Polymerase, die Vent<sup>TM</sup> Polymerase, die *Tne* Polymerase und die UITma<sup>TM</sup> Polymerase zur Kombination mit der *Taq* DNA Polymerase geeignet. Die Gene sind (über die Firma Boehringer Mannheim) zugänglich von der *Pwo* Polymerase und der *Tne* Polymerase. Die *Pfu* Polymerase ist erhältlich von Stratagene Inc. Für ein rationales Proteindesign ist die *Tne* Polymerase aufgrund ihrer Homologie zur *Taq* Polymerase und *E. coli* polI gut geeignet. Bei der Verwendung der *Pfu* Polymerase sind Planungen nur anhand von Aminosäuresequenzalignments unter Berücksichtigung bekannter konservierter, für die Funktion essentieller Aminosäuren und Motive möglich.

2. Die Modifikation der *Taq* DNA Polymerase in der Zwischendomäne

Zum Einfügen einer 3'-5'-Exonukleaseaktivität müssen alle für die Aktivität essentiellen Aminosäuren in die Struktur eingefügt werden. Nach heutigem Kenntnisstand betrifft das besonders die drei Motive Exo I, Exo II und Exo III. Die essentiellen Motive müssen außerdem in geeigneter Art und Weise verknüpft werden, um in die für die Katalyse notwendige räumliche Lage gebracht zu werden.

Die Veränderung der *Taq* DNA Polymerase im Polymerasebereich ist ebenfalls möglich. Auch ein de novo Design von Polymerasen ist prinzipiell denkbar.

Die erfindungsgemäßen Chimären können weiterhin optimiert werden durch:

1. Entfernung der 5'-Nukleasedomäne (möglich auch proteolytisch) oder nachträgliche Inaktivierung der 5'-Nukleaseaktivität (beschrieben in Merkens, L. S. (1995) Biochem. Biophys. Acta 1264, 243-248)
2. Modifikation durch Punktmutationen oder Fragmentaustausch
3. Optimierung der Strukturen an den Grenzflächen der Chimären
4. Optimierung durch random Mutagenese und/oder random Rekombination mit anderen Polymerasegenen (molekulare Evolution).

Beispiele für erfindungsgemäße Polymerasenchimären sind die folgenden:

- *Taq* DNA Polymerase(M1-V307)*E.coli* DNA Polymerase(D355-D501)*Taq* DNA Polymerase(A406-E832)
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*E.coli* DNA Polymerase(Y327-K511)*Taq* DNA Polymerase(L416-E832)
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*E.coli* DNA Polymerase(Y327-H519)*Taq* DNA Polymerase(E424-E832); Punktmutation A643G; Ile455Val SEQ ID No.: 1
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*E.coli* DNA Polymerase(Y327-V536)*Taq* DNA Polymerase(L441-E832)
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*E.coli* DNA Polymerase(Y327-G544)*Taq* DNA Polymerase(V449-E832); SEQ ID No.: 2
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P302)*E.coli* DNA Polymerase(K348-S365)*Taq* DNA Polymerase(A319-E347) *E.coli* DNA Poly(N450-T505)*Taq* DNA Polymerase(E410-E4832);
- *Taq* DNA Polymerase(M1-V307)*Tne* DNA Polymerase(D323-D468)*Taq* DNA Polymerase(A406-E832)
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*Tne* DNA Polymerase(P295-I478)*Taq* DNA Polymerase(L416-E832)
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*Tne* DNA Polymerase(P295-E485)*Taq* DNA Polymerase(E424-E832); stille Mutation A1449C SEQ ID No.: 3



- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*Tne* DNA Polymerase(P295-V502)*Taq* DNA Polymerase(L441-E832)
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*Tne* DNA Polymerase(P295-G510)*Taq* DNA Polymerase(V449-E832); stille Mutation C1767T SEQ ID No.: 4
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P302)*Tne* DNA Polymerase(E316-D333)*Taq* DNA Polymerase(A319-E347)*Tne* DNA Polymerase(I381-M394)*Taq* DNA Polymerase(R362-L380)*Tne* DNA Polymerase(E415-T472)*Taq* DNA Polymerase(E410-E832);
- G308D/V310E/L352N/L356D/E401Y/R305D
- *Taq* DNA Polymerase(1-291)*Pfu* DNA Polymerase(V100-R346)*Taq* DNA Polymerase(E424-E832)
- *Taq* DNA Polymerase(1-291)*Pfu* DNA Polymerase(H103-S334)*Taq* DNA Polymerase(E424-E832); SEQ ID No.: 5
- *Taq* DNA Polymerase(1-291)*Pfu* DNA Polymerase(V100-F389)*Taq* DNA Polymerase(-E424-E832)
- *Taq* DNA Polymerase(1-291)*Pfu* DNA Polymerase(V100-F389)*Taq* DNA Polymerase(-V449-E832); SEQ ID No.: 6
- *Taq* DNA Polymerase(1-291)*Pfu* DNA Polymerase(M1-F389)*Taq* DNA Polymerase(-V449-E832)

Von den oben genannten Polymerasenchimären wurden die folgenden näher untersucht:

- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*E.coli* DNA Polymerase(Y327-H519)*Taq* DNA Polymerase(E424-E832): Punktmutation A643G; Ile455Val (*Taq* Ec1) SEQ ID No.: 1
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*E.coli* DNA Polymerase(Y327-G544)*Taq* DNA Polymerase(V449-E832), (*Taq* Ec2) SEQ ID No.: 2
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*Tne* DNA Polymerase(P295-E485)*Taq* DNA Polymerase(E424-E832), stille Mutation A1449C (*Taq* Tne1) SEQ ID No.: 3
- *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*Tne* DNA Polymerase(P295-G510)*Taq* DNA Polymerase(V449-E832), stille Mutation C1767T (*Taq* Tne2) SEQ ID No.: 4
- *Taq* DNA Polymerase(1-291)*Pfu* DNA Polymerase(V100-R346)*Taq* DNA Polymerase(E424-E832), (*Taq* Pfu1) SEQ ID No.: 5
- *Taq* DNA Polymerase(1-291)*Pfu* DNA Polymerase(V100-F389)*Taq* DNA Polymerase(-V449-E832), (*Taq* Pfu2) SEQ ID No.: 6

Zur Auswahl geeigneter DNA Polymerasen werden multiple Aminosäuresequenzalignments verfügbarer Sequenzen von DNA Polymerasen und DNA bindenden Proteinen, zum Beispiel mit dem Programm GCG (Devereux et al., 1984, Nucl. Acids Res. 12, 387-395) erstellt. Zur Erstellung eines guten Alignments sind Sekundärstrukturvorhersagen, bekannte strukturbasierte Sequenzalignments, bekannte Motive und funktionell essentielle Aminosäuren sowie phylogenetische Gesichtspunkte zu berücksichtigen. Bestehen die Proteine aus funktionell und strukturell unabhängigen Domänen, ist es sinnvoll, die Aminosäuresequenzalignments zunächst bezogen auf die einzelnen Domänen zu erstellen und erst danach zu einem vollständigen Sequenzalignments zusammenzufügen.

Werden homologe Sequenzen gefunden, deren Tertiärstruktur bekannt ist, so besteht die Möglichkeit, eine 3D-Modellstruktur aus dem homologen Protein abzuleiten. Zur Modellerstellung kann das Programm BRAGI (Reichert und Schomburg, 1988, J. Mol. Graph. 6, 161-165) verwendet werden. Zur Energieminimierung der Strukturen einzelner Molekülbereiche sowie ganzer Moleküle kann das Programm AMBER (Weiner et al., 1984, J. Am. Chem. Soc. 106, 765-784) und zur Überprüfung der Güte des Modells, das Programm Procheck verwendet werden. Sind nur die  $\alpha$ -Koordinaten der Struktur des Ausgangsproteins erhältlich, so kann die Struktur, zum Beispiel mit dem Programm O (Jones et al., 1991, Acta Cryst. A47, 110-119), rekonstruiert werden. Des weiteren besteht die Möglichkeit, in der Proteindatenbank unzugängliche, jedoch bereits als Stereobild veröffentlichte,  $\alpha$ -Koordinaten, zu erhalten, indem das Stereobild eingescannt wird, die Koordinaten gepickt werden (zum Beispiel mit dem Programm Magick) und die z-Koordinaten berechnet werden (zum Beispiel mit dem Programm Stereo). Die Planung von Varianten kann anhand von Aminosäuresequenzalignments, anhand von 3D-Modellen oder anhand von experimentell ermittelten 3D-Strukturen erfolgen.

Des weiteren wurden Chimärenvarianten hergestellt, bei denen die Polymerasenaktivität aufweisende Domäne Reverse Transkriptase Aktivität aufweist. Beispiele für geeignete Polymerasen sind z.B. die Polymerase aus *Anaerocellum thermophilum* Ath oder *Thermus Thermophilum* Tth. Die 3'-5'-Exonukleaseaktivität wird durch eine Domäne eingefügt, die aus einer anderen Polymerase stammt, z.B. die Tne-Polymerase oder die Pfu oder Pwo Polymerase. Diese Chimäre kann zusätzlich 5'-3'-Exonukleaseaktivität aufweisen, wobei die 5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne sowohl aus der ersten als auch aus der zweiten Polymerase stammen kann.

Die rekombinanten Hybridpolymerasen HYB und HYBd5 haben wie die DNA-Polymerase aus *Anaerocellum thermophilum* eine relativ starke Reverse Transcriptase-Aktivität, sowohl in Ge-

genwart von Magnesium-, als auch in Gegenwart von Manganionen. Wie in Abbildung 22 ersichtlich, ist das Verhältnis von Polymeraseaktivität zu Reverser Transkriptase-Aktivität günstiger als bei der Tth-Polymerase, dem gebräuchlichsten und bekanntesten Enzym dieser Art. Dieser Befund gilt sowohl für die Magnesium-abhängige, als auch für die Mangan-abhängige Reverse Transkriptase-Aktivität. Daraus kann geschlossen werden, daß die Polymerasedomäne, die von der Anaerocellum-Polymerase stammt, auch im Hybridenzym volle Aktivität zeigt. Die Variante HYBd5 zeigt außerdem 3'-5' Exonuclease-Aktivität wie in Abbildung 21 ersichtlich. Diese wird durch die Anwesenheit von Deoxynucleosidtriphosphaten gehemmt, wie es für die typische "Proofreading Aktivität" zu erwarten ist. Die Exonuclease-Domäne, die von der DNA-Polymerase aus *Thermotoga neapolitana* stammt, ist also im Hybridmolekül ebenfalls aktiv. Die Hemmbarkeit der Exonuclease-Aktivität zeigt ferner, daß beide Domänen des Hybridpolymerasemoleküls interagieren und somit die Hybridpolymerase den natürlichen Enzymen funktionell sehr ähnlich ist.

Die gentechnische Herstellung von Domänenaustauschvarianten kann durch PCR-Mutagenese, nach der SOE-Methode (Horton et al. (1989) *Gene* 77, 61-68) oder nach der modifizierten Methode (siehe Schema unter Beispiele) mit Hilfe chemisch synthetisierter Oligodesoxynukleotide erfolgen. Die jeweiligen DNA-Fragmente werden auf einem Agarosegel aufgetrennt, isoliert und in den Ausgangsvektor ligiert. Als Ausgangsvektoren können für *E. coli* pUC Derivate mit geeigneten Promotoren verwendet werden wie pTE, pTaq, pPL, Bluescript. Die Plasmid-DNA wird in einen *E. coli*-Stamm transformiert, zum Beispiel XL1-Blue, einige Klone werden gepickt und deren Plasmid-DNA isoliert. Möglich ist aber auch die Verwendung anderer Stämme wie z.B. Nova Blue, BL21(DE), MC1000 etc. Selbstverständlich ist es auch möglich, in anderen Organismen zu klonieren wie in Hefe-, Pflanzen-, Säugerzellen. Durch Restriktionsanalyse wird eine Vorauswahl an Klonen getroffen, deren Plasmid-DNA im modifizierten Bereich sequenziert wird.

Die Genexpression der Zielproteine kann bei vielen Plasmiden, zum Beispiel Pbtq, durch IPTG induziert werden. Bei der Herstellung vieler verschiedener Varianten ist es sinnvoll, ein universelles Aufreinigungsverfahren zu etablieren. Hierfür ist die Affinitätschromatographie an Ni-NTA (nickel-nitrilotriacetic acid) Agarose gut geeignet, die nach dem Anfügen eines His-Tags an das Protein, zum Beispiel durch PCR, verwendet werden kann. Die Proteinkonzentrationen können mit dem Protein Assay ESL (Boehringer Mannheim) bestimmt werden und kontaminierende Nebenaktivitäten der Präparationen wie für die kommerziell erhältliche Taq Polymerase (Boehringer Mannheim) beschrieben. Zur weiteren Charakterisierung der Varianten werden

Polymerase-, Exonukleaseaktivitäts- und Thermostabilitätstests durchgeführt, sowie das jeweilige Temperaturoptimum bestimmt. Die Polymeraseaktivitäten der Chimären können in nicht-radioaktiven Testsystemen, zum Beispiel durch Bestimmung der Einbaurate von Dig-dUTP in DNase aktivierte Kalbsthymus-DNA, oder in radioaktiven Testsystemen, zum Beispiel durch Bestimmung der Einbaurate von  $\alpha$ -[ $^{32}\text{P}$ ]dCTP in M13 mp9 ss-DNA, ermittelt werden. Zur Bestimmung der Temperaturoptima der Polymeraseaktivität der Chimären wird die Polymerasereaktion bei unterschiedlichen Temperaturen durchgeführt und es werden die Spezifischen Aktivitäten berechnet. Zur Bestimmung der Thermostabilitäten werden die Restaktivitäten, d.h. Prozent der Ausgangsaktivität ohne Hitzebehandlung, nach Hitzebehandlung ermittelt. Die 3'-5' Exonukleaseaktivität kann durch den Abbau eines 5'-Dig-markierten Primers, der an einen DNA-Matrizenstrang annealt, von seinem 3'-Ende her, gezeigt werden. Die Korrektur von 3'-mismatched Primern und deren Verlängerung (proof-reading) kann gezeigt werden, indem falschgepaarte (mismatched) 5'-Dig-markierte Primer, die in der Erkennungssequenz eines Restriktionsenzymes (z.B. Eco RI) an einen Matrizenstrang annealen, verlängert werden. Nur bei einer Korrektur der Fehlpaarung durch das Enzym, ist eine Spaltung mit dem Restriktionsenzym möglich. Die Prozessivität kann durch Einsatz der Varianten in der PCR untersucht werden. Ist das Enzym nicht thermostabil genug für den Einsatz in der PCR, so kann eine PCR beim Temperaturoptimum als Verlängerungstemperatur unter sukzessiver Enzymzugabe durchgeführt werden. Die Exonukleaseaktivität der Chimären kann in einem radioaktiven Testsystem bestimmt werden. Dazu wurde eine bestimmte Menge der Chimären-Polymerasen (i.d. Regel 2.5 U) bei unterschiedlichen Temperaturen für 4 Stunden mit markierter DNA (5  $\mu\text{g}$  [ $^3\text{H}$ ] DNA in den jeweiligen Testpuffern) inkubiert. Gegebenenfalls wurden dNTPs in unterschiedlichen Konzentrationen zugesetzt (0 - 0.2 mM). Nach Abstoppen der Reaktion wird die Freisetzung an radioaktiv markierten Nukleotiden bestimmt.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist desweiteren die DNA-Sequenz der oben beschriebenen Polymerasenchimären. Insbesondere sind Gegenstand der vorliegenden Erfindung die DNA-Sequenzen der SEQ.ID.No.: 1-6. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind desweiteren die Aminosäuresequenzen der oben beschriebenen Polymerase-Chimäre. Insbesondere sind Gegenstand der vorliegenden Erfindung die Aminosäuresequenzen der SEQ.ID.No: 7-12. Desweiteren ist Gegenstand der Erfindung die DNA-Sequenz SEQ.ID.No: 17.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind die Vektoren, die die obengenannten DNA Sequenzen enthalten. Ein bevorzugter Vektor ist pBTaq (Plasmid Pbtq4\_oligo 67 (Villbrandt (1995), Dissertation, TU Braunschweig)). Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind die

*E. coli* Stämme, insbesondere der Stamm *Escherichia coli* XL1-Blue, die den Vektor, der das Polymerase-Chimäre-Gen trägt, enthalten. Folgende Stämme wurden bei der DSM hinterlegt, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig:

- *E. coli* XL1 Blue x pBTaqEc1 : TaqEc1 DSM No. 12053
- *E. coli* XL1 Blue x pBTaqTne1: TaqTne1 DSM No. 12050
- *E. coli* XL1 Blue x pBTaqTne2: TaqTne2 DSM No. 12051
- *E. coli* XL1 Blue x pBTaqPfu1: TaqPfu1 DSM No. 12052

Die erfindungsgemäßen Polymerasenchimären eignen sich insbesondere für die Amplifikation von DNA-Fragmenten, z.B. für die Polymerase-Ketten-Reaktion. Eine weitere Anwendung ist beispielsweise die Sequenzierung von DNA-Fragmenten.

Ein bevorzugter Vektor für die Ath-Tne-Chimäre ist der folgende:

*E. coli* BL 21(DE3) plysS x pETHYBR : HYBR

*E. coli* BL 21 (DE3) plysS x pETHYBR d5 : HYBR d5

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind die *E. coli* Stämme, die den Vektor, der das Polymerase-Chimäre-Gen trägt, enthalten. Folgende Stämme wurden bei der DSM hinterlegt, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, D-38129 Braunschweig: HYBR (DSM No. 12720); HYBR d5 (DSM No. 12719).

Die Herstellung der oben genannten Ath-Tne-Chimäre ist beispielsweise in den Beispielen 8-11 beschrieben. Die erfindungsgemäßen Chimären die RT-Aktivität aufweisen, eignen sich insbesondere für Reverse Transkription von RNA.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Kit zur Amplifikation von DNA-Fragmenten, der mindestens eine der erfindungsgemäße Polymerasenchimäre enthält.

### Kurze Beschreibung der Abbildungen

#### Abbildung 1:

DNA-Sequenz der *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*E.coli* DNA Polymerase(Y327-H519)*Taq* DNA Polymerase(E424-E832); Punktmutation A643G; Ile455Val SEQ ID No.: 1; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 7.

#### Abbildung 2:

DNA-Sequenz der *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*E.coli* DNA Polymerase(Y327-G544)*Taq* DNA Polymerase(V449-E832); SEQ ID No.: 2; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 8.

#### Abbildung 3:

DNA-Sequenz der *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*Tne* DNA Polymerase(P295-E485)*Taq* DNA Polymerase(E424-E832); stille Mutation A1449C SEQ ID No.: 3; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 9.

#### Abbildung 4:

DNA-Sequenz der *Taq* DNA Polymerase(M1-P291)*Tne* DNA Polymerase(P295-G510)*Taq* DNA Polymerase(V449-E832); stille Mutation C1767T SEQ ID No.: 4; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 10.

#### Abbildung 5:

DNA-Sequenz der *Taq* DNA Polymerase(1-291)*Pfu* DNA Polymerase(H103-S334)*Taq* DNA Polymerase(E424-E832); SEQ ID No.: 5; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 11.

#### Abbildung 6:

DNA-Sequenz der *Taq* DNA Polymerase(1-291)*Pfu* DNA Polymerase(V100-F389)*Taq* DNA Polymerase(-V449-E832); SEQ ID No.: 6; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 12.

#### Abbildung 7:

Aufreinigung der Domänen austauschvariante TaqEcl an Ni-NTA-Agarose Analyse auf einem mit Coomassieblau angefärbten 8%igen Polyacrylamidgel.

Bahnen 1, 8 Proteinmolekulargewichtsmarker Broad Range  
(200 kDa, 116,25 kDa, 97,4 kDa, 66,2 kDa, 45 kDa, 31 kDa)  
Bahn 2 lösliche Proteine  
Bahn 3 Säulendurchlauf  
Bahn 4 Waschfraktion Puffer B  
Bahn 5 Waschfraktion Puffer A  
Bahnen 6, 7 Eluatfraktionen Puffer C  
Proteinausbeute (OD<sub>280</sub>) etwa 7 mg

#### Abbildung 8:

Bestimmung der Proteinreinheit: SDS-PAGE, Phast-System (10-15%): Silberfärbung MW: Proteinmolekulargewichtsmarker; NHis-TaqPol: Taq DNA Polymerase mit N-terminalem His-Tag; TaqEc1, TaqTne1, TaqTne2: Domänen austauschvarianten.

#### Abbildung 9:

Spezifische Aktivitäten der Domänen austauschvarianten bei verschiedenen Temperaturen.

#### Abbildung 10:

Test der Domänen austauschvarianten in der PCR unter sukzessiver Enzymzugabe, Extension bei 72°C.

Lambda-DNA (links): Größe der Zielsequenz = 500 bp

Plasmid pa (rechts): Größe der Zielsequenz = 250 bp

Bahn 1: Taq DNA Polymerase (Fa. BM), 100 ng, 5 Units

Bahn 2: Domänen austauschvariante TaqEc1, 500 ng, 1,25 Units/Zyklus

Bahn 3: Domänen austauschvariante TaqTne1, 50 ng, 3,6 Units/Zyklus

Bahn 4: Domänen austauschvariante TaqTne2, 50 ng, 3,5 Units/Zyklus

III: DNA-Längenstandard III (Fa. BM)

VI: DNA-Längenstandard VI (Fa. BM)

Ergebnis: Beim Einsatz der Domänen austauschvariante TaqTne2 entstanden PCR-Produkte der richtigen Größe.

#### Abbildung 11:

Test der Domänen austauschvarianten in der PCR unter sukzessiver Enzymzugabe, Extension bei 55°C.

Lambda-DNA (links): Größe der Zielsequenz = 500 bp

Plasmid pa (rechts): Größe der Zielsequenz = 250 bp

Bahn 1: Domänen austauschvariante TaqEc1, 500 ng, 6 Units/Zyklus

Bahn 2: Domänen austauschvariante TaqTne1, 50 ng, 7,5 Units/Zyklus

III: DNA-Längenstandard III (Fa. BM)

VI: DNA-Längenstandard VI (Fa. BM)

Ergebnis: Beim Einsatz der Domänen austauschvariante TaqEc1 entstanden PCR-Produkte der richtigen Größe.

Abbildung 12:

3'-5' Exonuklease-Test – Variante TaqEc1, Inkubation bei 72°C, Primer P1.

Abbildung 13:

3'-5' Exonuklease-Test – Variante TaqEc1, Inkubation bei 50°C, Primer P1 (links), Primer P2 (rechts).

Abbildung 14:

Korrektur von 3'-mismatched Primern und deren Verlängerung – Variante TaqEc1 (3'-mismatch primer correction assay)

(-) : ohne Restriktionsenzymverdau

(+) : Restriktionsenzymverdau mit Eco RI.

Abbildung 15:

Schematische Darstellung

Abbau von Primern am 3'-Ende (3'-5' exonuclease assay) und Korrektur von 3'-mismatched Primern und deren Verlängerung (3'-mismatch primer correction assay).

Abbildung 16:

Schematische Darstellung: Vereinfachtes Ablaufschema, Abbau von Primern am 3'-Ende und Korrektur von 3'-mismatched Primern und Verlängerung



Abbildung 17:

CLUSTAL W(1.5) Multiple Sequenz Alignment der Ath, Tne, PolI-Polymerase Gene sowie des vorhergesagten Gens der Polymerasenchimäre. Der Teil der Chimären-Sequenz der aus Tne stammt, ist unterstrichen.

Abbildung 18:

- A. Struktur der Primer, die für die PCR-Amplifikation der Tne-Exo und der Ath-Polymerase-Domänen verwendet wurden.
- B. Teil des Aminosäuresequenz-Alignments der zwei Polymerasen, der den gewählten "Kreuzungspunkt" zeigt.
- C. Nukleotidsequenz und Position der Primer, die für die Konstruktion des Hybridpolymerase-Gens designed wurden. Die Sequenzen der Primer, die nicht komplementär sind zur Zielsequenz, wurden in kleinen Buchstaben dargestellt. Komplementäre "überlappende" Sequenzen in den TNELOW und ATHUP Primern wurden doppelt unterstrichen.

Abbildung 19:

- A. Teil des Alignments der Ath und Tne Aminosäuresequenzen, die die homologe Region zeigt, die für das Zusammenspleißen der Domänen der zwei Polymerasen verwendet wurde.
- B. Nukleotid- und Aminosäuresequenz der zwei Polymerasen in der Splicing Region. Gezeigt ist die einzige BamHI Schnittstelle in der Tne DNA Sequenz und die Sequenz der beiden Oligos, die konstruiert wurden, um die BamHI Schnittstelle in die Ath-Polymerase einzuführen.

Abbildung 20:

Konstruktion des Gens der Polymerasenchimäre (s. auch Beispiel 8)

Abbildung 21:

3'-5'-Exonuklease-Aktivität der rekombinanten DNA-Polymerase

- 1- DNA des Lambda-Phagen, hydrolysiert durch HindIII
- 2- DNA des Lambda-Phagen, hydrolysiert durch HindIII, und dNTP, und rekombinante DNA-Polymerase

- 3- DNA des Lambda-Phagen, hydrolysiert durch HindIII, ohne dNTP, mit rekombinanter DNA-Polymerase
- 4- DNA des Lambda-Phagen, hydrolysiert durch HindIII.

#### Abbildung 22:

Reverse Transcriptase-Aktivität der rekombinanten Polymerasen HYB und HYBd5.

Die DNA-Polymerase-Aktivität von je 2 µl Extract aus E.coli BL21 (DE3) plysS x pETHYBr und E.coli BL21(DE3) plysS x pETHYBRd5 wurden zu je 0,05 units ermittelt. Diese Mengen wurden verwendet um die Reverse Transcriptase-Aktivität der Hybridpolymerasen zu bestimmen in Abhängigkeit von 1 mM Mangan- bzw 4 mM Magnesiumionen. Als Kontrolle wurde Tth (0,25 units) als Mangan-abhängige Reverse Transcriptase und C.therm. Polymerase (Roche Molecular Biochemicals) als Magnesiumabhängige Reverse Transcriptase verwendet.

#### **Beispiel 1: Konstruktion und Klonierung**

##### **Etablierung eines universellen Aufreinigungsverfahrens**

Zur Vereinheitlichung des Aufreinigungsprotokolls der Domänen austauschvarianten wurde die Affinitätschromatographie an Ni-NTA (nickel-nitrilotriacetic acid) Agarose verwendet. Dazu war es notwendig, vor der Herstellung der Proteinvarianten, ein His-Tag an die/in die *Taq* DNA Polymerase an-/einzufügen. Geplant und hergestellt wurden zwei verschiedene His-Tag-Varianten im Plasmid Pbtatq4\_oligo67 (Boehringer Mannheim). Die Variante NHis-TaqPol enthält ein N-terminales His-Tag, eine Enterokinasespaltstelle, um das His-Tag gegebenenfalls abzuspalten und ein Epitop zum Nachweis der His-Tag-Proteine mit Antikörpern (Quiagen). Sie wurde durch PCR von der EcoRI-Site bis zur PstI-Site hergestellt. Bei der N-terminalen Proteinsequenzierung konnten von der Variante NHis-TaqPol die zwanzig N-terminalen Aminosäuren als richtig bestätigt werden.

Sequenz: NHis-TaqPol

<u>EcoRI</u>	<u>Codon aus TaqPol</u>
5' G AA TTC ATG AGG GGC TCG CAT CAC CAT CAC CAT CAC GCT GCT GAC GAT GAC GAT AAA ATG AGG GGC 3'	
	Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asn Asp Asp Lys Met Arg Gly
	<u>MRGSHis epitope [Met-Arg-Gly-Ser-(His)]</u> <u>Enterokinase [(Asp)<sub>4</sub>-Lys-X]</u>

SEQ ID No.: 13: 5' G AA TTC ATG AGG GGC TCG CAT CAC CAT CAC CAT CAC GCT GCT GAC GAT GAC GAT AAA ATG AGG GGC 3'

SEQ ID No.: 14: Met Arg Gly Ser His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp Lys Met Arg Gly

Die Variante 5DHis-TaqPol enthält ein His-Tag in einem flexiblen Loop der 5' Nukleasedomäne, zwischen Glycin 79 und Glycin 80 der *Taq* DNA Polymerase und wurde durch PCR-Mutagenese von der EcoRI-Site bis zur PstI-Site hergestellt.

Sequenz: 5DHis-TaqPol

SEQ ID No.: 15

SEQ ID No.: 16

5' GAG GCC TAC GGG CAT CAC CAT CAC CAT CAC GGG TAC AAG GCG 3'  
Glu Ala Tyr Gly His His His His His Gly Tyr Lys Ala

Die Korrektheit der Plasmid-DNA im jeweils modifizierten Bereich der beiden neuen Gene wurde durch DNA-Sequenzierung bestätigt. Beide modifizierten Gene wurden unter gleichen Bedingungen und in gleicher Höhe wie das Ausgangsprotein ohne His-Tag exprimiert, konnten gut über Ni-NTA-Agarose aufgereinigt werden und verhielten sich in der Standard-PCR wie die *Taq* Polymerase ohne His-Tag. Für die Aufreinigung der Domänenaustauschvarianten wurde das N-terminale His-Tag verwendet

#### Aminosäuresequenzalignments

Zur Planung der Domänenaustauschvarianten wurden folgende Aminosäuresequenzalignments erstellt:

1. *Tne*-, *E.coli I*- und *Taq* DNA Polymerase
2. *Pfu*-, *E.coli I*- und *Taq* DNA Polymerase
3. Multiple Aminosäuresequenzalignments von DNA Polymerasen

Die Alignments wurden bezogen auf einzelne Molekülbereiche (Domänen) mit dem Programm GCG erstellt und unter Berücksichtigung bekannter Sekundärstrukturen, Motive und essentieller Aminosäuren und unter Verwendung des strukturbasierten Sequenzalignments der Sequenzen der 3'-5' Exonukleasedomäne des Klenow Fragmentes mit der entsprechenden Domäne der *Taq* DNA Polymerase (Abbildung 2d in Kim et al. (1995) Nature 376, 612-616) zu dem vollständigen Sequenzalignments zusammengefügt.

Zur Auswahl der Ausgangsstruktur des Klenow Fragmentes für das Homologiemodelling wurden die damals zugänglichen Strukturen der *E. coli* DNA Polymerase I mit dem Programm Bragi im RMS-Fit verglichen:

Klenow Fragment – dCMP Komplex (PDB-code:1dpi), 2,8 Å (1987), Klenow Fragment - dCTP-Komplex (PDB-code:1kfd) 3,9 Å (1993) und Klenow Fragment, D355A - DNA-Komplex (PDB-code:1kln) 3,2 Å (1994).

Ausgewählt wurde die Struktur Klenow Fragment (PDB-code:1kln). In den zwei Bereichen, in den Koordinaten fehlten, wurden zwei Loops eingebaut (Programm Bragi) und energieminiert (Programm Amber). Die Güte der Proteinstruktur wurde überprüft (Programm Procheck).

### Erstellung von 3D-Modellen

Für den Molekülbereich der *Taq* DNA Polymerase, der die Aminosäuren 292-832 umfaßt, wurde ein 3D-Modell in Homologie zur Struktur des Klenow Fragmentes (PDB-code:1kln) mit dem Programm Bragi erstellt. Die Modellierung umfaßte Aminosäureaustausche, Einführung von Insertionen und Deletionen, Energieminimierung der neuen Loopbereiche und Energieminimierung des gesamten Moleküls (Programm Amber).

Die Struktur der *Taq* DNA Polymerase war zum Zeitpunkt der Modellierungsarbeiten schon veröffentlicht, jedoch noch nicht in der Proteindatenbank zugänglich. Zur Erstellung eines Modells der Zwischendomäne der *Taq* DNA Polymerase, die der 3'-5' Exonukleasedomäne des Klenow Fragmentes entspricht (Aminosäuren 292-423) wurde ein Stereobild (Abbildung 2c in Kim et al. (1995) Nature 376, 612-616) eingescannt, die  $\alpha$ -Koordinaten am Bildschirm (jeweils x- und y-Koordinaten für das linke und rechte Bild) gepickt (Programm Magick, (John Cristy, E. I. du Pont De Nemours and Company Incorporated)), die z-Koordinaten berechnet (Programm Stereo, (Collaborative Computational Project, Number 4 (1994) Acta Cryst. D50, 760-763)), die Proteinhauptkette unter Erzeugung eines poly-Alanins rekonstruiert (Programm O), Aminosäureaustausche durchgeführt (Programm Bragi) und eine Energieminimierung des gesamten Moleküls durchgeführt (Programm Amber). Das Modell der Aminosäurereste 292-423 (s.o.) wurde an das Modell der Polymerasedomäne (Aminosäuren 424-832) (s.o.) unter Berücksichtigung der Strukturalignments der *Taq* DNA Polymerase mit dem Klenow Fragment (Abbildung 2b und 2c in Kim et al. (1995) Nature 376, 612-616) angefügt. Die gesamte Modellstruktur wurde energieminiert (Programm Amber) und die Güte der Modellstruktur überprüft (Programm Procheck, (Laskowski, R., A., et al. (1993) J. Appl. Cryst. 26, 283-291)).

Von der *Tne* DNA Polymerase (Reste 297-893) wurde ein 3D-Modell in Homologie zur Struktur des Klenow Fragmentes (PDB-code:1klh) erstellt. Die Modellierung umfaßte Aminosäureaustausche, Einführung von Insertionen und Deletionen (Programm Bragi), Energieminimierung der neuen Loopbereiche, Energieminimierung des gesamten Moleküls (Programm Amber) und Überprüfung der Güte der Modellstruktur (Programm Procheck).

Es wurden 20 Proteinvarianten geplant.

Bei Verwendung der *E. coli* polI und der *Tne* Polymerase anhand der erstellten 3D-Strukturmodelle, bei Verwendung der *Pfu* Polymerase anhand der erstellten Aminosäurealignments.

#### Gentechnische Herstellung der Domänen austauschvarianten

Das N-terminale His-Tag wurde durch PCR eingefügt und die Domänen austauschvarianten wurden nach der modifizierten SOE-Methode (Horton et al. (1989) Gene 77, 61-68), dargestellt im Schema, mit Hilfe chemisch synthetisierter Oligodesoxynukleotide hergestellt. Die jeweiligen DNA-Fragmente wurden auf einem Agarosegel aufgetrennt, mit dem QIAquick Gel Extraction Kit (Firma Qiagen) nach dem mitgelieferten Protokoll isoliert und bei den PCR-Reaktionen I bis IV in der nachfolgenden PCR-Reaktion eingesetzt oder bei der PCR-Reaktion V mit den beiden Restriktionsenzymen, deren Erkennungssequenz sich in den flankierenden Primern befanden (Eco RI und Pst I) nachgeschnitten. Die Ligation von DNA-Fragmenten und die Herstellung und Transformation von kompetenten XL1-Blue *E. coli*-Zellen durch Elektroporation erfolgte wie von Villbrandt (1995, Dissertation, TU Braunschweig) beschrieben. Es wurden einige Klone gepickt und deren Plasmid-DNA mit dem QIAprep Spin Plasmid Kit (Firma Qiagen) nach dem mitgelieferten Protokoll isoliert. Mikrobiologische Arbeitstechniken und die Rezepturen zur Herstellung von Flüssig- bzw. Plattenmedien sowie das Anlegen von Glyzerinkulturen wurden, wie im Handbuch von Sambrook et al. (1989, Molecular cloning - a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York) beschrieben, durchgeführt. Die Domänen austauschvarianten konnten in gleicher Höhe wie das Ausgangsprotein exprimiert werden.

#### Beispiel 2: Aufreinigung (für eine Chimäre)

##### Aufreinigung der Domänen austauschvarianten

Alle Domänen austauschvarianten wurden nach dem gleichen Protokoll aus *Escherichiacoli* XL1-Blue isoliert. Die Fermentation erfolgte im 1-Liter-Maßstab in LB-Medium/100 mg/ml Ampicillin/12,5 mg/ml Tetracyclin/1 mM IPTG bei 37°C für 16 Stunden. Die Zellen wurden abzentri-

fugiert, in 20 ml Lysispuffer (50 mM Tris-HCl, pH 8,5, 10 mM 2-Mercaptoethanol, 1 mM PMSF) aufgenommen, bei -70°C für mindestens 16 Stunden eingefroren und 10 Minuten mit Ultraschall behandelt. Die Zelltrümmer wurden abzentrifugiert und der sterilfiltrierte Überstand auf eine Ni-NTA (nickel-nitrilotriacetic acid)-Agarose-Säule (Qiagen) mit einem Säulenvolumen von 3,5 ml ( $r = 0,65$  cm,  $h = 2,7$  cm) aufgetragen. Es wurde mit 40 ml Puffer A (20 mM Tris-HCl, pH 8,5, 100 mM KCl, 20 mM Imidazol, 10 mM 2-Mercaptoethanol, 10% (v/v) Glycerin), anschließend mit 10 ml Puffer B (20 mM Tris-HCl, pH 8,5, 1 M KCl, 20 mM Imidazol, 10 mM 2-Mercaptoethanol, 10% (v/v) Glycerin) und nochmals mit 10 ml Puffer A gewaschen. Die Elution erfolgte mit 15 ml Puffer C (20 mM Tris-HCl, pH 8,5, 100 mM KCl, 100 mM Imidazol, 10 mM 2-Mercaptoethanol, 10% (v/v) Glycerin). Die Flußrate betrug 0,5 ml/Minute und die Fraktionsgröße 10 ml bei den Waschfraktionen und 1 ml bei den Elutionfraktionen. Die vereinigten Fraktionen wurden gegen Lagerpuffer (20 mM Tris-HCl pH 8,0, 100 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0,5% Tween 20, 50% Glycerin) dialysiert und 200 µg/ml Gelatine sowie Nonidet P40 in einer Endkonzentration von 0,5% zugesetzt. Die Proteinlösungen wurden bei -20°C aufbewahrt.

Die Analyse der Aufreinigung der Domänehaustauschvariante TaqEcl an Ni-NTA-Agarose wird in Abb. 7 gezeigt.

#### Bestimmung der Proteinkonzentration

Die Proteinkonzentrationen wurden durch Messung der  $OD_{280}$  und mit dem Protein Assay ESL (Boehringer Mannheim) bestimmt. Abb. 8 zeigt die Bestimmung der Proteinreinheit: SDS-PAGE, Phast-System (10-15%): Silberfärbung.

#### **Beispiel 3: Temperaturoptimum der Polymeraseaktivität der Chimären**

Die Polymeraseaktivitäten der Chimären wurden in einem nicht-radioaktiven Testsystem bestimmt. Zum Abgleich der Werte wurde ein radioaktives Testsystem verwendet. Beim nicht-radioaktiven Testsystem wurde die Einbaurate von Dig-dUTP in DN'ase aktivierte Kalbsthymus-DNA bestimmt. Ein 50 µl Testmix enthielt 5 µl Puffermix (500 mM Tris-HCl, 150 mM  $(NH_4)_2SO_4$ , 100 mM KCl, 70 mM  $MgCl_2$ , 100 mM 2-Mercaptoethanol, pH 8,5), je 100 µM dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 36 nM Dig-dUTP (Boehringer Mannheim), 12 µg Kalbsthymus-DNA (DN'ase aktiviert), 10 µg Rinderserumalbumin und 2 µl chimäres Enzym, oder 0,02 Units Taq Polymerase (Boehringer Mannheim) als Referenz in Verdünnungspuffer (20 mM Tris-HCl, pH 8,0, 100 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 200 µg/ml Gelatine, 0,5% Tween 20, 0,5%

Nonidet P40, 50% Glyzerin). Die Inkubation der Reaktionsansätze erfolgte für 30 Minuten bei verschiedenen Temperaturen. Die Reaktionen wurden auf Eis abgestoppt. Je 5 µl der Reaktionsansätze wurden in weiße membranbeschichtete Mikrotiterplatten (Pall BioSupport, SM045BWP) pipetiert und 10 Minuten bei 70°C gebacken. Die Membran der Mikrotiterplatte wurde unter Verwendung der zugehörigen Absaugwanne (Pall BioSupport) wie folgt behandelt: 100 µl Puffer 1 (1%iges Blocking Reagenz (Boehringer Mannheim) in 0,1 M Maleinsäure, 0,15 M NaCl, pH 7,5) auftragen, zwei Minuten inkubieren, durchsaugen, einmal wiederholen; 100 µl Puffer 2 (1:10000 verdünnter Anti-Dig-AP-Fab-Fragment Antikörpern (Boehringer Mannheim) in Puffer 1) auftragen, zwei Minuten inkubieren, durchsaugen, einmal wiederholen; 200 µl Puffer 3 (Puffer 1 mit 0,3 % Tween 20) unter Vakuum auftragen, einmal wiederholen; 200 µl Puffer 4 (0,1 M Tris-HCl, 0,1 M NaCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 9,5) unter Vakuum auftragen; 50 µl Puffer 5 (1:100 verdünntes CSPD (Boehringer Mannheim) in Puffer 4) auftragen, fünf Minuten inkubieren, durchsaugen. Die Proben wurden im Luminometer (MicroLumar LB 96P, Berthold oder Wallac Micro Beta Trilux) vermessen.

Beim radioaktiven Testsystem wurde die Einbaurate von  $\alpha$ -[<sup>32</sup>P]dCTP in 1 µg M13 mp9 ss-DNA bestimmt. Ein 50 µl Testmix enthielt 5 µl Puffermix (670 mM Tris-HCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 mM 2-Mercaptoethanol, 2% Tesit, 2 mg/ml Gelatine, pH 8,8), je 10 µM dATP, dGTP, dTTP, 5 µM CTP, 0,1 µCi [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]dCTP, 1 µg M13 mp 9 ss-DNA annealed mit 0,3 µg M13-Primer und 1 µl chimäres Enzym, oder 0,01 Units *Taq* Polymerase (Boehringer Mannheim), als Referenz in Verdünnungspuffer (20 mM Tris-HCl, pH 8,0, 100 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 200 µg/ml Gelatine, 0,5% Tween 20, 0,5% Nonidet P40, 50% Glyzerin). Zur Herstellung der DNA-Primermischung wurden 277,2 µg M13 mp9 ss-DNA (Boehringer Mannheim) und 156 µg M13-Sequenzierprimer (17 mer) für 30 Minuten auf 55°C erhitzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur abgekühlt. Die Inkubation der Reaktionsansätze erfolgte für 30 Minuten bei 65°C. Die Reaktionen wurden auf Eis abgestoppt. Je 25 µl der Reaktionslösungen wurden entnommen und in 250 µl 10% Trichloressigsäure (TCA)/0,01 M Natriumpyrophosphat (PP<sub>i</sub>) pipettiert, durchmischt und 30 Minuten auf Eis inkubiert. Die Proben wurden über vorgewässerten GFC-Filtern (Whatman) abgesaugt, die Reaktionsgefäße mit 5% TCA/PP<sub>i</sub> ausgewaschen und die Filter mindestens dreimal mit derselben Lösung gewaschen. Nach den Trocknen wurden die Filter in 5 ml Szintillationsflüssigkeit im  $\beta$ -Counter vermessen. Die Enzymproben wurden in Enzymverdünnungspuffer verdünnt. Von den Verdünnungen wurde jeweils 1 µl eingesetzt. Es wurden Doppel- oder Drei-

fachbestimmungen vorgenommen. Als Referenz wurde die *Taq* DNA Polymerase der Firma Boehringer Mannheim verwendet.

Eine Einheit (Unit) ist definiert als die Enzymmenge, die notwendig ist, um 10 nM Deoxyribonukleotidtriphosphat in säurefällbare DNA bei 65°C in 30 Minuten einzubauen. Zur Ermittlung der Standardwerte wurden je 2 µl der Gesamtmischung auf einen trockenen Filter pipettiert und getrocknet. Der Null-Wert wurde ermittelt, indem Proben ohne Enzym mitinkubiert und identisch gewaschen wurden.

Die Bestimmung der Temperaturoptima erfolgte mit dem nicht- radioaktiven DNA Polymerasetest bei verschiedenen Temperaturen.

Spezifische Aktivitäten bei verschiedenen Temperaturen

Enzym	Temperatur [°C]					
	25	37	50	60	72	80
TaqPol (BM)	0,0	0,0	5764,4	8489,1	50000,0	57986,1
NHis-TaqPol	0,0	0,0	5616,1	12165,2	60843,7	74784,4
TaqEc1	704,9	10353,4	50066,5	41034,4	2677,5	1016,2
TaqTne1	0,0	2559,4	15967,0	18900,4	1100,0	0,0
TaqTne2	747,2	5180,2	23549,6	30627,3	64139,1	28727,4

#### Beispiel 4: Temperaturstabilität der Polymeraseaktivität der Chimären

Die Bestimmung der Thermostabilität erfolgte durch Erhitzen der Reaktionsansätze auf 80°C und 95°C für jeweils eine, drei oder sechs Minuten mit anschließender Bestimmung der Restaktivitäten mit dem nicht-radioaktiven DNA Polymerasetest (siehe Abb. 9).

Tabelle: Restaktivitäten [Prozent der Ausgangsaktivität ohne Hitzebehandlung] bei 72°C der *Taq* DNA Polymerase (TaqPol), der *Taq* DNA Polymerase mit HisTag (NHis-TaqPol) und der drei Domänenaustauschvarianten (TaqEc1, TaqTne1, TaqTne2) nach der Hitzebehandlung (Einbau von Dig-dUTP in DNase aktivierte Kalbsthymus-DNA)



Enzym	1 Min 80°C	3 Min 80°C	6 Min 80°C	1 Min 95°C	3 Min 95°C	6 Min 95°C
TaqPol	100	100	100	100	100	100
NHis-TaqPol	100	100	100	100	100	100
TaqEcl	0	0	0	0	0	0
TaqTne1	16	0	0	0	0	0
TaqTne2	100	100	100	92	0	0

#### Beispiel 5: PCR unter sukzessiver Enzymzugabe

Die Polymerasenchimären wurden in der PCR unter sukzessiver Enzymzugabe getestet. Die Extension erfolgte bei 72°C (Abb. 10) und bei 55°C (Abb. 11). Der Reaktionsansätze mit einem Reaktionsvolumen von 100 µl enthielten jeweils 1 ng Lambda-DNA oder pa-Plasmid-DNA (Fa. BM), je 1 µM Primer (25-mer), je 200 µM jedes dNTP's und Standard-PCR-Puffer mit MgCl<sub>2</sub> (Boehringer Mannheim). Die Reaktionsbedingungen waren:

Für Extension bei 72°C: 1 Minute 94°C / 30 Sekunden 50°C / 1 Minute 72°C // 25 Zyklen, 2 Minuten 94°C vor und 7 Minuten 72°C nach der PCR-Reaktion. Die Zugabe von 0,5 µl der Domänen austauschvarianten pro Zyklus erfolgte jeweils bei 50°C.

Für Extension bei 55°C: 1 Minute 95°C / 30 Sekunden 50°C / 1 Minute 55°C // 25 Zyklen, 2 Minuten 95°C vor und 7 Minuten 55°C nach der PCR-Reaktion. Die Zugabe von 0,5 µl der Domänen austauschvarianten pro Zyklus erfolgte jeweils bei 50°C.

#### Beispiel 6: 3'-5' Exonuklease-Test – Variante TaqEcl

Die Proben wurden mit einem 5'-Dig-markierten Primer, der an einen DNA-Matrizenstrang annealt, in Abwesenheit von Nukleotiden inkubiert. Ein 10 µl Testmix enthielt 1 µl Puffer (100 mM Tris-HCL, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 500 mM KCl, 0,1 mg/ml Gelatine, pH 8,3), 1 µl Enzym TaqEcl (500 Einheiten/µl), 1 pMol Matrizenstrang (50mer, siehe Schema) und je 500 fMol 5'-Dig-markierten Primer P1 (matched, 23mer, siehe Schema) oder P2 (mismatched, 23mer, siehe Schema). Die Inkubation der Reaktionsansätze erfolgte bei 50°C mit unterschiedlicher Inkubationsdauer. Die

DNA-Fragmente wurden auf einem 12,5 %igen Acrylamidgel (SequaGel-Kit, Firma Medco) aufgetrennt und durch Kontaktblot auf eine Nylonmembran (Boehringer Mannheim) übertragen. Die Nylonmembran wurde wie folgt behandelt: 100 ml Puffer 1 (1%iges Blocking Reagenz (Boehringer Mannheim) in 0,1 M Maleinsäure, 0,15 M NaCl, pH 7,5), 30 Minuten Inkubation; 100 ml Puffer 2 (1: 10000 verdünnter Anti-Dig-AP-Fab-Fragment Antikörper (Boehringer Mannheim) in Puffer 1), 30 Minuten Inkubation; je 135 ml Puffer 3 (Puffer 1 mit 0,3 %Tween 20), dreimal für 30 Minuten waschen; 50 ml Puffer 4 (0,1 M Tris-HCL, 0,1 M NaCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 9,5), 5 Minuten Inkubation; 50 ml Puffer 5 (1:1000 verdünntes CPD-Star (Boehringer Mannheim) in Puffer 4), 5 Minuten Inkubation. Die Nylonmembran wurde auf Watman-Papier getrocknet und zur Chemilumineszenz-Detektion für 30 bis 60 Minuten auf einem Chemilumineszenzfilm (Boehringer Mannheim) exponiert. Beim Vorhandensein einer 3'-5' Exonuklease wird der Abbau des Primer am 3'-Ende sichtbar (siehe Abbildungen). Als Negativkontrolle wurde die *Taq* Polymerase mit HisTag (NHis-*Taq*Pol), und als Positivkontrolle die *UITma* DNA Polymerase verwendet. Bei beiden Kontrollenzymen erfolgte die Inkubation der Reaktionsansätze bei 72°C. Für die *UITma* DNA Polymerase wurde der vom Hersteller angegebene Reaktionspuffer verwendet. Abb. 12 und 13 zeigen den 3'-5'-Exonuklease-Test-Variante *Taq*Ec1.

**Beispiel 7: Korrektur von 3'-mismatched Primern und deren Verlängerung – Variante *Taq*Ec1 (3'-mismatch primer correction assay)**

Dig-markierte Primer, die an einen Matrizenstrang (50 mer, siehe Schema) annealen wurden in vier verschiedenen Experimenten verlängert. Primer waren ein matched Primer (P1, 23 mer, siehe Schema) und zwei verschiedene mismatched Primer (P2, P3, 23 mere, siehe Schema), die in der Erkennungssequenz des Restriktionsenzym *Eco* RI annealen. Ein 20 µl Testmix enthielt 1 µl Puffer (100 mM Tris-HCL, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 500 mM KCl, 0,1 mg/ml Gelatine, pH 8,3), 1 µl Enzym *Taq*Ec1 (500 Einheiten/µl), je 10 µM dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 1 pMol Matrizenstrang und je 500 fMol 5'-Dig-markierten Primer P1 (matched) oder P2 (mismatched) oder P3 (mismatched). Die Reaktionsansätze wurden für 60 Minuten bei 50°C inkubiert und danach für 5 Minuten bei 95°C erhitzt. Je 10 µl wurden entnommen und mit je 10 Einheiten *Eco* RI für 30 Minuten bei 37°C gespalten. Die DNA-Fragmente wurden auf einem 12,5 %igen Acrylamidgel (SequaGel-Kit, Firma Medco) aufgetrennt und durch Kontaktblot auf eine Nylonmembran (Boehringer Mannheim) übertragen. Die Nylonmembran wurde wie oben beschrieben behandelt und für 30 bis 60 Minuten auf einem Chemilumineszenzfilm (Boehringer Mannheim)

exponiert. Bei der Verwendung des matched Primer resultiert der Verdau mit Eco RI in einem 28 bp und einem 18 bp Fragment. Die mismatched Primer liefern dieses Ergebnis nur dann, wenn mismatched Nukleotide durch matched Nukleotide ersetzt werden (siehe Abbildung 14).

### **Beispiel 8: Modifikation einer rekombinanten DNA Polymerase**

#### **Design des hybriden Polymerasegens. Ath Pol und Tne Pol**

##### **Computer Voraussage**

Die Struktur des chimären Polymerasegens wurde hergeleitet aus dem Sequenz-Alignment (Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J. Nucleic Acids Research, 1994, 22: 4673-4680) zwischen den Polymerasen und dem E.Coli POLI Gen - die Sequenz mit der höchsten Übereinstimmung mit der gelösten 3D Struktur in der Datenbank von Brookhaven (für das Klenow Fragment). Die Paar-Alignments zeigten eine Übereinstimmung von ca. 40%, was zur Annahme Anlaß gibt, daß die 1KLN Struktur als best-möglicher Prototyp anzusehen ist. Um einen reibungslosen Übergang von einer Struktur zu anderen zu gewährleisten, sollte sich der Kreuzungspunkt, vom Gesichtspunkt des multiplen Alignments aus gesehen, in einem Gebiet befinden, welches eine hohe Ähnlichkeit mit allen drei Proteinen besitzt. Der Kreuzungspunkt sollte daher zwischen der Polymerase- und der 3'-5' Exonuklease Domäne liegen (Abbildung 17,18).

##### **Bau eines hybriden Polymerasegens und Expressionsvektoren.**

Computervoraussagen und -simulation dienten als Grundlage für den Bau eines hybriden Gens. Zum Erhalt der ATH POL und TNE EXO Domänen wurden PCR Amplifikation and Subcloning als Verfahren verwendet, wobei zwei Primerpaare mit den in Abb. 18 gezeigten Strukturen verwendet wurden. Primer besitzen Sequenzen, die für die N- und C-Enden der jeweiligen Gene sowie der Verbindungssequenz in der Mitte des Gens spezifisch sind, wie in Abb. 2 B, C zu sehen ist. Die Überlappung von 12 Basen in den ATHUP und TNELOW Primern wurde für die folgende Rekonstruktion des Hybridgens angelegt und überdies in einer eindeutigen SalI Restriktionsstelle eingefügt, welche für weitere Veränderungen mit Polymerase-Domänen verwendet werden kann. Die Überhänge der 5'-Sequenz der TNEUP und ATHLOW Primer kodieren für die Restriktionsstellen NcoII und HindIII zum späteren Subcloning der erforderlichen Fragmente im Expressionsvektor.

Die Verwendung dieser Strategie erfordert jedoch umfassendes Sequenzieren der subklonierten Regionen. Aus diesem Grunde wurde ein zusätzliches Konstrukt gebaut und die Spleißverbindung zwischen den Genen wurde an eine andere Position verschoben, nämlich 42 Aminosäuren

weiter unterhalb der ursprünglichen Verbindungsposition zu einer Region zwischen den Polymerasen, die eine hohe Ähnlichkeit aufweist. Ein Vorteil des neuen Designs ist die eindeutige BamHI Sequenz innerhalb der die vorgeschlagene Spleißverbindung beinhaltenden TNE Polymerase-Sequenz. Für die Konstruktion des Hybridgens, wurde der Einbau einer BamHI Sequenz in die ATH Polymerase Sequenz, die daraufhin für das Zusammenfügen von Teilen des Gens verwendet wird, mit einer gerichtete Mutagenese durchgeführt. Die Aminosäuren und Nukleotidsequenz der neuen Verbindung ist in Fig. 19 dargestellt.

Die Konstruktion des hybriden Polymerasegens erfolgte wie in Fig. 20 beschrieben durch multiples Subkloning, gerichtete Mutagenese und Sequenzierungsschritte.

Alle durch die PCR-Amplifikation erhaltenen Fragmente wurden von den Enden her zu den eindeutigen, in weiteren Subkloningschritten verwendeten Restriktionstellen sequenziert. Um die Genauigkeit der Amplifikation sicherzustellen, wurden die PCR-Reaktionen mit Vent-Polymerase (New England Biolabs) durchgeführt. Die gerichtete Mutagenese erfolgte unter Anwendung des "Quick-Change" Verfahrens (Stratagene).

#### **Beispiel 9: Expression eines hybriden Polymease Gens in E. coli**

Die Plasmide pETHYBR und pETHYBRd5 wurden in dem E. coli Stamm BL21(DE3) plySS von Novogene transformiert und führten zur Expression von T7 Polymerase.

Die Expression des hybriden POL Gens wurde durch Messen der DNA Polymerase-Aktivität unter Verwendung des aktivierten DNA Assays in den Extrakten rekombinanten Stämme überwacht. Es galten die folgenden Bedingungen.

- 1) Die rekombinanten E.coli Stämme wurden in LB Medium mit 100 mcg/ml Ampicilin + 30 mcg/ml Chloramphenicol (für pETHYBR und pETHYBRd5 in BL21(DE3)plyS) oder in 20 ml LB Medium mit 100 mcg/ml Ampicilin + 30 mcg/ml Kanamycin (pARHYBd5 in JM109/pSB1611) angezüchtet.
- 2) Die Kulturen wurden bei 37°C auf eine optische Dicht von OD 550 ~ 0,6-0,7 geschüttelt; danach wurden die Kulturen auf 25°-28°C gekühlt, IPTG wurde hinzugefügt bis sich eine Endkonzentration von 1mM einstellte. Die Inkubation wurde dann bei 25-30°C fortgeführt:

Für zwei pET Vektoren betrug die Dichte von nicht-induzierten Kulturen nach 4 Stunden Inkubation OD 550 ~ 2,2 und bei induzierten Kulturen ~ 1,5.

- 3) Proteinextrakte von BL21(DE3)plyS Stämmen wurden durch Pelletierung von 5 ml Aliquoten der Kulturen hergestellt; die Resuspendierung des Zellpellets erfolgte dann in 100 µl Unterbrechungspuffer mit 40 mM Tris-HCl, pH 8,0, 0,1 mM EDTA, 7 mM 2.mercaptethanol, 0,2 mM PMSF, 0,1% Triton X-100. Die Zell-Extrakte wurden in zwei Zyklen durch Gefrieren und Auftauen der Zellsuspension in flüssigem Stickstoff/Warmwasserbad hergestellt; dann wurde die KCl Lösung hinzugefügt und ergab eine Endkonzentration von 0,75 M und die Extrakte der induzierten und nicht-induzierten Kulturen wurden 15 min lang bei 72° erhitzt, pelletiert und zur Messung der Polymeraseaktivität verwendet; dies erfolgte in dem aktivierten DNA Assay (100 mcg/ml aktivierter DNA, 3 mM MgSO<sub>4</sub>, 50 mM Tris-HCl, pH 8,9, 0,1% Triton X-100, 70 µM dA-P33, 5-10 µCi/ml) in 20µl Volumen unter Verwendung von 2 µl erhitzten Zellextrakten.

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle festgehalten:

Relative DNA Polymerase Aktivität in extrakten von rekombinanten stämmen (% Einbau von Markierungen, durchschnittlich 3 unabhängige Messungen)

Stamm	BL21(DE3)plyS			
Plasmid	pETHYBR		pETHYBRd5	
IPTG	-	+	-	+
TCA unlöslich r/a	5	40	2	85

Aus diesen Daten geht hervor, daß beide Versionen des hybriden Polymerasegens mit dem pET Vektor System exprimiert werden konnten.

Charakterisierung der rekombinanten huybriden Polymerase.

Thermostabilität

Die Wärmostabilität rekombinanter Polymerasen wurde duch Erhitzen des Extrakts des E. coli Stammes über verschiedenen Zeiträume (10, 30, 60, 120 Minuten) bei 95°C hinweg bestimmt. Es zeigte sich, daß die voll ausgebildete ebenso wie die verkürzte hybride Polymerase nicht ausrei-

chend stabil waren ( 100% inaktiv nach 10 minütiger Inkubation bei 95°C. Der Expressionsgrad der rekombinanten Polymerasen wurde durch Analyse der erhitzten Zellextrakte in 10% SDS PAAG evaluiert; da zwischen den induzierten und nicht-induzierten Kulturen kein sichtbare Unterschied festgestellt werden konnte, läßt sich schließen, daß die Produktion hybrider Polymerasen 1% des gesamten löslichen Proteines nicht überschreitet.

#### Korrekturlese-Aktivität

Die Korrekturlese-Aktivität der von pETHYBRd5, z.B. Klenow Fragment, abgeleiteten rekombinanten DNA-Polymerase wurde gemäß dem gleichen Protokoll getestet, das auch für die archaeal DNA verwendet wurde. Es zeigte sich, daß das rekombinante Enzym Korrekturlese-Aktivitäten aufweist.

#### Reverse Transkriptase Aktivität

Die folgende Reaktionsmischung wurde zur Bestimmung der reversen Transkriptase Aktivität verwendet: polydA-(dT)<sub>15</sub>-1 µg; TTP – 330 µM, digoxigenin-dUTP – 0,36 µM, BSA – 200 µg/ml, Tris HCl, pH 8,5 – 10 mM, KCl – 20 mM. Die Konzentration von MgCl<sub>2</sub> im Reaktionsgemisch variierte zwischen 0,5 und 10 mM. DTE wurde bei einer Konzentration 10 mM beigegeben.

2 µl rekombinante DNA-Polymerase (abgeleitet von pETHYBRd5, z.B. Klenow Fragment) wurde dem Reaktionsgemisch beigegeben und bei 50°C 15 min lang inkubiert. Tth DNA-Polymerase mit Mn<sup>2+</sup> wurde als positive Kontrolle verwendet. Nach Anhalten der Reaktion, wurde das Gemisch auf positive gelandend Nylonmembrane (BM) aufgegeben. Der Nachweis des eingebauten Digoxigenin wurde gemäß BM Protokoll, 1995 durchgeführt.

Es zeigte sich, daß die rekombinanten Enzyme (Klenow-Fragment) reverse Transkriptase-Aktivität besitzen (Abb. 22). Die Aktivität ist abhängig von der Gegenwart von Mn<sup>2+</sup> (optimale Konzentration 1 mM). Die Gegenwart von Mg<sup>2+</sup> hatte darüber hinaus einen weiteren stimulierenden Effekt (optimale Mg<sup>2+</sup> Konzentration 4 mM).

**Beispiel 11: Konstruktion des chimären Polymerasegens (siehe Abb. 20)**

Abkürzung der Restriktionssequenzen – B-BamHI, Bsp-BspHI, H-HindIII, N-NcoI, R-EcoRI, S-Sall, Sn-SnaI, X-XhoI, Xm-XmaI

1. PCR Amplifikation der ATH POL Domäne mit den Primern ATH UP und ATHLOW unter Verwendung des pARHis10 Plasmids mit dem kompletten Polymerasegen im Vektor pTrcHISB und Subcloning im pSK+ Bluescript Plasmid → pBSAT. Der Einschub wurde aus den flanking Primers sequenziert und stellte sich heraus, daß aufgrund eines Fehlers während der Primersynthese eine einzige Base in der ATHUP Primer Sequen gelöscht worden war.
2. Gerichtete Mutagenese des Plasmids pARHis10 mit den Primern m1 und m2 unter Verwendung der "Quick-change Procedure" (Stratagene) zum Einbau BamHI Sequenz an Position 1535 → pARHis10mut.
3. PCR Amplifikation der TNE EXO Domäne mit den Primern TNEUP und TNELOW auf der Matrize des pTNEC2 Plasmids und Subklonen im SmaI cut puC19 Plasmid → pTEX1 und pTEX2 mit unterschiedlich orientiertem Einbau.
4. Subklonen des 1444 bp XhoI-BamHI Fragmentes aus dem pTNEC2 Plasmid mit der "LONG" EXO Domäne im XhoI-BamHI cut Plasmid pTEX1 → pTEXL.
5. Einbau des kompletten ATH Polymerase Gens als 2553 bp BamHI-HindII Fragment in BamHI-HindIII cut pTEXL → pTEXLATF.
6. Substitution des XmaI-SnaI Fragmentes des pTEXLATF Plasmids mit dem 1094 bp XmaI-SnaI Fragmentes aus dem pARHis 10mut Plasmids mit der eingebauten BamHI Sequenz → pTEXLATF\*.
7. Einbau des 4214 bp NcoIHindII Fragmentes aus pTEXLATF\* in den NcoI-HindII cut pET21d Vektor → pETNAT.
8. Löschen des für die N-terminale Domäne der ATH Polymerase kodierenden 1535 bp BamHI Fragmentes aus dem pETNAT Plasmid; dies führt zu einem "in-frame" Joining der TNE EXOL und ATH POL Sequenzen → pETHYBR.
9. Substitution des 1661 bp NcoI-BamHI Fragmentes von pETHYBR mit dem 829 bp BspHI-BamHI Fragment aus pETNAT; dies führt zur Verwendung von Met284 der TNE Polymerase

als Anfangscodon und Löschen der N-terminalen Domäne mit der angenommenen 5'-3' Exonuklease Aktivität → pETHYBRd5.



**Patentansprüche**

1. Polymerasenchimäre zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die funktionellen Aminosäurefragmenten in der Polymerasenchimäre aktiv sind und die Polymerasenchimäre 5'-3'-Polymeraseaktivität aufweist.
2. Polymerasenchimäre gemäß Anspruch 1 zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die erste oder die zweite Polymerase 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweist und die Polymerasenchimäre sowohl 5'-3'-Polymeraseaktivität als auch 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweist.
3. Polymerasenchimäre gemäß Anspruch 1 oder 2, wobei die Aminosäurefragmente jeweils Polymerasendomänen der ersten oder zweiten Polymerase entsprechen.
4. Polymerasechimäre gemäß einem der Ansprüche 1-3, wobei die Polymeraseaktivität aufweisende Domäne von der ersten Polymerase stammt und die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne von der zweiten Polymerase stammt.
5. Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-4, wobei die erste oder die zweite Polymerase die Taq DNA Polymerase ist.
6. Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-4, wobei Chimäre zusätzlich RT-Aktivität aufweist.
7. Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-6, wobei die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Polymerase eine Pol-I-Typ-Polymerase ist.
8. Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-6, wobei die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Polymerase eine Pol-II-Typ-Polymerase ist.
9. Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-8, wobei in die Aminosäuresequenz der Chimäre Histidin-tags eingebaut wurden.

10. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-9.
11. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 1.
12. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 2.
13. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 3.
14. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 4.
15. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 5.
16. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 6.
17. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No. 17.
18. Vektor enthaltend eine DNA-Sequenz gemäß der Ansprüche 10-17.
19. Transformierte Zelle die den Vektor gemäß Anspruch 18 enthält.
20. Verfahren zur Herstellung der Polymerasenchimären gemäß einem der Ansprüche 1-9, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren die folgenden Schritte umfaßt:
  - Planung von Varianten mit Hilfe von Aminosäuresequenzalignments, von 3D-Modellen oder mit Hilfe von experimentell ermittelten 3D-Strukturen
  - gentechnische Herstellung der Domänenaustauschvarianten
  - Legierung der DNA-Fragmente in Ausgangsvektoren
  - Expression der Chimären in einem Wirt, der durch DNA-Fragment tragenden Vektoren transformiert wurde
  - Aufreinigung der exprimierten Polymerasenchimäre
21. Verwendung der Polymerasenchimären gemäß einem der Ansprüche 1-9 zur PCR.

22. Verwendung der Polymerasenchimären gemäß Anspruch 1 zur Sequenzierung von DNA-Fragmenten.
23. Verwendung der Polymerasenchimären gemäß einem der Ansprüche 1-9 zur RT-PCR ausgehend von einem RNA-template.
24. Kit enthaltend eine Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-9.

Abbildung 1/1  
SEQ ID No.: 1

## DNA-Sequenz:

```
1  ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGA CTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCCTGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CTTGGACCGG CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCCTG
751 GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCTATGAC AACTACGTCA CCATCCTTGA
951 TGAAGAAACA CTGAAAGCGT GGATTGCGAA GCTGGAAAAA GCGCCGGTAT
1001 TTGCATTGTA TACCGAAACC GACAGCCTTG ATAACATCTC TGCTAACCTG
1051 GTCGGGCTTT CTTTGTCTAT CGAGCCAGGC GTAGCGGCAT ATATTCCGGT
1101 TGCTCATGAT TATCTTGATG CGCCCGATCA AATCTCTCGC GAGCGTGCAC
1151 TCGAGTTGCT AAAACCGCTG CTGGAAGATG AAAAGGCGCT GAAGGTCGGG
1201 CAAAACCTGA AATACGATCG CGGTATTCTG GCGAACTACG GCATTGAACT
1251 GCGTGGGATT GCGTTTGATA CCATGCTGGA GTCCTACATT CTCATAGCG
1301 TTGCCGGGCG TCACGATATG GACAGCCTCG CGGAACGTTG GTTGAAGCAC
1351 AAAACCATCA CTTTGAAGA GATTGCTGGT AAAGGCAAAA ATCAACTGAC
1401 CTTTAACCAG ATTGCCCTCG AAGAAGCCGG ACGTTACGCC GCCGAAGATG
1451 CAGATGTCAC CTTGCAGTTG CATCTGAAAA TGTGGCCGGA TCTGCAAAAA
1501 CACGAGAGGC TCCTTTGGCT TTACCGGGAG GTGGAGAGGC CCCTTTCCGC
1551 TGTCTGGGCC CACATGGAGG CCACGGGGGT GCGCCTGGAC GTGGCCTATC
1601 TCAGGGCCTT GTCCCTGGAG GTGGCCGAGG AGGTCGCCC GCTCGAGGCC
1651 GAGGTCTTCC GCCTGGCCGG CCACCCCTTC AACCTCAACT CCCGGGACCA
1701 GCTGGAAAGG GTCCTCTTTG ACGAGCTAGG GCTTCCCGCC ATCGGCAAGA
1751 CGGAGAAGAC CGGCAAGCGC TCCACCAGCG CCGCCGTCTT GGAGGCCCTC
1801 CGCGAGGCCC ACCCATCGT GGAGAAGATC CTGCAGTACC GGGAGCTCAC
1851 CAAGCTGAAG AGCACCTACA TTGACCCCTT GCCGGACCTC ATCCACCCCA
1901 GGACGGGCCG CCTCCACACC CGTTCAACC AGACGGCCAC GGCCACGGGC
1951 AGGCTAAGTA GTCCTGATCC CAACCTCCAG AACATCCCCG TCCGCACCCC
2001 GCTTGGGCAG AGGATCCGCC GGGCCTTCAT CGCCGAGGAG GGGTGGCTAT
2051 TGGTGGCCCT GGA CTATAGC CAGATAGAGC TCAGGGTGCT GGCCACCTC
2101 TCCGGCGACG AGAACCTGAT CCGGGTCTTC CAGGAGGGGC GGGACATCCA
2151 CACGGAGACC GCCAGCTGGA TGTTGGCGT CCCCCGGGAG GCCGTGGACC
2201 CCCTGATGCG CCGGGCGGCC AAGACCATCA ACTTCGGGGT CCTCTACGGC
2251 ATGTCGGCCC ACCGCCTCTC CAGGAGCTA GCCATCCCTT ACGAGGAGGC
2301 CCAGGCCTTC ATTGAGCGCT ACTTTCAGAG CTTCCCAAG GTGCGGGCCT
2351 GGATTGAGAA GACCTGGAG GAGGGCAGGA GCGGGGGTA CGTGGAGACC
2401 CTCTTCGGCC GCCGCCGCTA CGTGCCAGAC CTAGAGGCCC GGGTGAAGAG
2451 CGTGCGGGAG GCGGCCGAGC GCATGGCCTT CAACATGCCC GTCCAGGGCA
2501 CCGCCGCCGA CCTCATGAAG CTGGCTATGG TGAAGCTCTT CCCCAGGCTG
```

Abbildung 1/2  
SEQ ID No.: 1

```

2551 GAGGAAATGG GGGCCAGGAT GCTCCTTCAG GTCCACGACG AGCTGGTCCT
2601 CGAGGCCCCA AAAGAGAGGG CGGAGGCCGT GGCCCGGCTG GCCAAGGAGG
2651 TCATGGAGGG GGTGTATCCC CTGGCCGTGC CCCTGGAGGT GGAGGTGGGG
2701 ATAGGGGAGG ACTGGCTCTC CGCCAAGGAG TGA

```

SEQ ID No.: 7

Aminosäuresequenz:

```

1  MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL
51  TTSRGEPVQA VYGFAXSLK ALKEDGDAVI VVFDKAPSF RHEAYGGYKA
101 GRAPTPEDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG
151 YEVRILTADK DLYQLLSORI HVLHPEGYLI TPWLWEKYG LRPDQWADYR
201 ALTGDESDNL PGVKGIGECT ARKLLEWGS LEALLKNLDR LKPAIREKIL
251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLLH
301 EFGLLESPYD NYVTILDEET LKAWIAKLEK APVFAFDTET DSLDNISANL
351 VGLSFAIEPG VAAYIPVAHD YLDAPDQISR ERALELLKPL LEDEKALKVG
401 QNLKYDRGIL ANYGIELRGI AFDTMLESYI LNSVAGRHDM DSLAERWLKH
451 KTITFEEIAG KGNQLTFNQ IALEEAGRYA AEDADVTIQL HLKMWFDLQK
501 HERLLWLYRE VERPLSAVLA HMEATGVRLD VAYLRALSLE VAEVARLEA
551 EVFRLAGHPF NLNSRDQLER VLFDELGLPA IGKTEKTGKR STSAÄVLEAL
601 REAHPIVEKI LQYRELTKLK STYIDPLPDL IHPRTGRLHT RFNQATATG
651 RLSSSDPNLQ NIPVRTPLGQ RIRRAFIAEE GWLLVALDYS QIELRVLAHL
701 SGDENLIRVF QEGRDIHTET ASWMFGVPRE AVDPLMRRAA KTINFGVLYG
751 MSAHRLSQEL AIPYEEAQAF IERYFQSFPA VRAWIEKTLE EGRRRGYVET
801 LFGRRRYVPD LEARVKSURE AAERMAFNMP VQGTADLMK LAMVKLFPRL
851 EEMGARMLLQ VHDELVLEAP KERAFAVARL AKEVMEGVYP LAVPLEVEVG
901 IGEDWLSAKE

```

## Abbildung 2/1

SEQ ID No.: 2

## DNA-Sequenz:

```

1  ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCTCCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACGAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCCTGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCCTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCTATGAC AACTACGTCA CCATCCTTGA
951 TGAAGAAACA CTGAAAGCGT GGATTGCGAA GCTGGAAAAA GCGCCGGTAT
1001 TTGCAATTGA TACCGAAACC GACAGCCTTG ATAACATCTC TGCTAACCTG
1051 GTCGGGCTTT CTTTGGCTAT CGAGCCAGGC GTAGCGGCAT ATATTCCGGT
1101 TGCTCATGAT TATCTTGATG CGCCCGATCA AATCTCTCGC GAGCGTGCAC
1151 TCGAGTTGCT AAAACCGCTG CTGGAAGATG AAAAGGCGCT GAAGGTGGGG
1201 CAAAACCTGA AATACGATCG CGGTATTCTG GCGAACTACG GCATTGAACT
1251 GCGTGGGATT GCGTTTGATA CCATGCTGGA GTCCTACATT CTCAATAGCG
1301 TTGCCGGGCG TCACGATATG GACAGCCTCG CGGAACGTTG GTTGAAGCAC
1351 AAAACCATCA CTTTTGAAGA GATTGCTGGT AAAGGCAAAA ATCAACTGAC
1401 CTTTAACCAG ATTGCCCTCG AAGAAGCCGG ACGTTACGCC GCCGAAGATG
1451 CAGATGTCAC CTTGCAGTTG CATCTGAAAA TGTGGCCGGA TCTGCAAAAA
1501 CACAAAGGGC CGTTGAACGT CTTGAGAAAT ATCGAAATGC CGCTGGTGCC
1551 GGTGCTTTCA CGCATTGAAC GTAACGGTGT GCGCCTGGAC GTGGCCTATC
1601 TCAGGGCCTT GTCCCTGGAG GTGGCCGAGG AGATCGCCCG CCTCGAGGCC
1651 GAGGTCTTCC GCCTGGCCGG CCACCCCTTC AACCTCAACT CCCGGGACCA
1701 GCTGGAAAGG GTCCTCTTTG ACGAGCTAGG GCTTCCCGCC ATCGGCAAGA
1751 CGGAGAAGAC CGGCAAGCGC TCCACCAGCG CCGCCGTCCT GGAGGCCCTC
1801 CGCGAGGCCC ACCCCATCGT GGAGAAGATC CTGCAGTACC GGGAGCTCAC
1851 CAAGCTGAAG AGCACCTACA TTGACCCCTT GCCGGACCTC ATCCACCCCA
1901 GGACGGGCCG CCTCCACACC CGCTTCAACC AGACGGCCAC GGCCACGGGC
1951 AGGCTAAGTA GTCCTGATCC CAACCTCCAG AACATCCCCG TCCGCACCCC
2001 GCTTGGGCAG AGGATCCGCC GGGCCTTCAT CGCCGAGGAG GGGTGGCTAT
2051 TGGTGGCCCT GGAATATAGC CAGATAGAGC TCAGGGTGCT GGCCACCTC
2101 TCCGGCGACG AGAACCTGAT CCGGGTCTTC CAGGAGGGGC GGGACATCCA
2151 CACGGAGACC GCCAGCTGGA TGTTCGGCGT CCCCCGGGAG GCCGTGGACC
2201 CCCTGATGCG CCGGGCGGCC AAGACCATCA ACTTCGGGGT CCTCTACGGC
2251 ATGTCGGCCC ACCGCCTCTC CCAGGAGCTA GCCATCCCTT ACGAGGAGGC
2301 CCAGGCCTTC ATTGAGCGCT ACTTTCAGAG CTTCCCAAG GTGCGGGCCT
2351 GGATTGAGAA GACCCTGGAG GAGGGCAGGA GGCGGGGGTA CGTGGAGACC
2401 CTCTTCGGCC GCCGCCGCTA CGTGCCAGAC CTAGAGGCCC GGGTGAAGAG
2451 CGTGCGGGAG GCGGCCGAGC GCATGGCCTT CAACATGCCC GTCCAGGGCA
2501 CCGCCGCCGA CCTCATGAAG CTGGCTATGG TGAAGCTCTT CCCCAGGCTG

```

## Abbildung 2/2

SEQ ID No.: 2

```

2551 GAGGAAATGG GGGCCAGGAT GCTCCTTCAG GTCCACGACG AGCTGGTCCT
2601 CGAGGCCCCA AAAGAGAGGG CGGAGGCCGT GGCCCGGCTG GCCAAGGAGG
2651 TCATGGAGGG GGTGTATCCC CTGGCCGTGC CCCTGGAGGT GGAGGTGGGG
2701 ATAGGGGAGG ACTGGCTCTC CGCCAAGGAG TGA

```

SEQ ID No.: 8

## Aminosäuresequenz:

```

1  MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL
51  TTSRGEVPQA VYGFASLLK ALKEDGDAVI VVFDKAPSF RHEAYGGYKA
101 GRAPTPEDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG
151 YEVRIILTADK DLYQLSDRI HVLHPEGYLI TPWLWEKYG LRPDQWADYR
201 ALTGDESDNL PGVKGIGECT ARKLLEEWGS LEALLKNLDR LKPAIREKIL
251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLH
301 EFGLLESPYD NYVTILDEET LKAWIAKLEK APVFADTET DSLDNISANL
351 VGLSFAIEPG VAAXIPVAHD YLDAPDQISR ERALELLKPL LEDEKALKVG
401 QNLKYDRGIL ANYGIELRGI AFDTMLESYI LNSVAGRHDH DSLAERWLKH
451 KTITFEEIAG KGKNQLTFNQ IALEEAGRYA AEDADVTLQL HLMWPDLOK
501 HKGPLNVFEN IEMPLVPVLS RIERNGVRLD VAYLRALSLE VAEETARLEA
551 EVFRLAGHPF NLNSRDQLER VLFDELGLPA IGKTEKTGKR STSAAVLEAL
601 REAHPIVEKI LQYRELTKLK STYIDPLPDL IHPRTGRLHT RFNQTATATG
651 RLSSSDPNLQ NIPVRTPLGQ RIRRAFIAEE GWLLVALDYS QIELRVLAHL
701 SGDENLIRVF QEGRDIHTET ASWMFGVPRE AVDPLMRAA KTINFGVLYG
751 MSAHRLSQEL AIPYEEAQAF IERYFQSFPK VRAWIEKTLE EGRRRGYVET
801 LFGRRRYVPD LEARVKSURE AAERMAFNMP VQGTADLMK LAMVKLFPR
851 EEMGARMLLQ VHDELVEAP KERAFAVARL AKEVMEGVYP LAVPLEVEVG
901 IGEDWLSAKE

```

Abbildung 3/1  
SEQ ID No.: 3

## DNA-Sequenz:

```
1  ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCTCTCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCCTGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCC ACCAGTGGGC CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCC CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGCCAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCCGTT GGATACAGAA TAGTGAAAGA
951 CCTGGTGGA TTTGAAAAAC TCATAGAGAA ACTGAGAGAA TCCCCTTCGT
1001 TCGCCATAGA TCTTGAGACG TCTTCCCTCG ATCCTTTCGA CTGCGACATT
1051 GTCGGTATCT CTGTGTCTTT CAAACCAAAG GAAGCGTACT ACATACCACT
1101 CCATCATAGA AACGCCCAGA ACCTGGATGA AAAAGAAGTT CTGAAAAAGC
1151 TAAAGAAAT CCTGGAGGAC CCCGGAGCAA AGATCGTTGG TCAGAATTG
1201 AAATTCGATT ACAAGGTGTT GATGGTAAAG GGTGTTGAAC CTGTCCCTCC
1251 TCACTTCGAC ACGATGATAG CGGCTTACCT TCTTGAGCCG AACGAAAAGA
1301 AGTTCAATCT GGACGATCTC GCATTGAAAT TTCTTGAGTA CAAAATGACC
1351 TCTTACCAGG AACTCATGTC CTTCTCTTCT CCGCTGTTTG GTTTCAGTTT
1401 TGCCGATGTT CCTGTAGAAA AAGCAGCGAA CTATTCCTGT GAAGATGCCG
1451 ACATCACCTA CAGACTCTAC AAGATCCTGA GCTTAAAACT CCACGAGGAG
1501 AGGCTCCTTT GGCTTTACCG GGAGGTGGAG AGGCCCCTTT CCGCTGTCTT
1551 GGCCACATG GAGGCCACGG GGGTGCGCCT GGACGTGGCC TATCTCAGGG
1601 CCTTGTCCTT GGAGGTGGCC GAGGAGATCG CCCGCCTCGA GGCCGAGGTC
1651 TTCCGCCTGG CCGGCCACCC CTTCAACCTC AACTCCCAGG ACCAGCTGGA
1701 AAGGGTCCTC TTTGACGAGC TAGGGCTTCC CGCCATCGGC AAGACGGAGA
1751 AGACCGGCAA GCGCTCCACC AGCGCCGCGG TCCTGGAGGC CCTCCGCGAG
1801 GCCCACCCCA TCGTGGAGAA GATCCTGCAG TACCGGGAGC TCACCAAGCT
1851 GAAGAGCACC TACATTGACC CTTTGCCGGA CCTCATCCAC CCCAGGACGG
1901 GCCGCCTCCA CACCCGCTTC AAECAGACGG CCACGGCCAC GGGCAGGCTA
1951 AGTAGCTCCG ATCCCAACCT CCAGAACATC CCCGTCCGCA CCCCCTTGG
2001 GCAGAGGATC CGCCGGGCCT TCATCGCCGA GGAGGGGTGG CTATTGGTGG
2051 CCCTGGACTA TAGCCAGATA GAGCTCAGGG TGCTGGCCCA CCTCTCCGGC
2101 GACGAGAACC TGATCCGGGT CTTCCAGGAG GGGCGGGACA TCCACACGGA
2151 GACCGCCAGC TGGATGTTCG GCGTCCCCCG GGAGGCCGTG GACCCCCTGA
2201 TGCGCCGGGC GGCCAAGACC ATCAACTTCG GGGTCCTCTA CGGCATGTCT
2251 GCCACCGCC TCTCCAGGA GCTAGCCATC CTTACGAGG AGGCCCAGGC
2301 CTTATTGAG CGTACTTTC AGAGCTTCCC CAAGGTGCGG GCCTGGATTG
2351 AGAAGACCTT GGAGGAGGGC AGGAGGCGGG GGTACGTGGA GACCTCTTC
2401 GGCCGCCGCC GCTACGTGCC AGACCTAGAG GCCCGGGTGA AGAGCGTGCG
2451 GGAGGCGGCC GAGCGCATGG CTTTCAACAT GCCCGTCCAG GGCACCGCCG
2501 CCGACCTCAT GAAGCTGGCT ATGGTGAAGC TCTTCCCCAG GCTGGAGGAA
```



Abbildung 3/2  
SEQ ID No.: 3

```

2551 ATGGGGGGCCA GGATGCTCCT TCAGGTCCAC GACGAGCTGG TCCTCGAGGC
2601 CCCAAAAGAG AGGGCGGAGG CCGTGGCCCG GCTGGCCAAG GAGGTCATGG
2651 AGGGGGGTGTA TCCCCTGGCC GTGCCCCTGG AGGTGGAGGT GGGGATAGGG
2701 GAGGACTGGC TCTCCGCCAA GGAGTGA

```

SEQ ID No.: 9

Aminosäuresequenz:

```

1   MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL
51  TTSRGEPVQA VYGFAKSLLK ALKEDGDAVI VVFDKAPSF RHEAYGGYKA
101 GRAPTPEDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG
151 YEVRIILTADK DLYQLLSDRI HVLHPEGYLI TPRAWLEKYG LRPDQWADYR
201 ALTGDESDNL PGVKGIGEKT ARKLLEEWGS LEALLKNLDR LKPAIRKIL
251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLLH
301 EFGLLESPPV GYRIVKOLVE FEKLIEKLRE SPSFAIDLET SSLOPFDCDI
351 VGISVSFKPK EAYYIPLHR NAQNLEKEV LKKLKEILED PGAKIVGQNL
401 KFDYKVLVVK GVEFVPPHFD TMIAAYLLEP NEKKENLDDL ALKFLGYKMT
451 SYQELMSFSS PLFGFSFADV PVEKAANYSC EDADITYRLY KILSLKLHEE
501 RLLWLYREVE RPLSAVLAHM EATGVRLDVA YLRALSLEVA EEIARLEAEV
551 SLEAGHPFNL NSRDQLERVL FDELGLPAIG KTEKTGKRST SAAVLEALRE
601 NPIVEKILQ YRELTCLKST YIDPLPLIH PRTGRLHTRF NOTATATGRL
651 SESDPNLQNI PVRTPLGQRI RRAFFIAEGW LLVALDYSQI ELRVLAHLGS
701 DENLIRVFQE GRDIHTETAS WMFGVPREAV DPLMRRAKT INFGVLYGMS
751 AHRLSQELAI PYEEAQAFIE RYFQSFPKVR AWIEKTLEEG RRRGYVETLF
801 GRRRYVPDLE ARVKSVREAA ERMAFNMPVQ GTAADLMKLA MVKLFPRLEE
851 MGARMLLQVH DELVLEAPKE RAEAVARLAK EVMEGVYPLA VPLEVEVGIG
901 EDWLSAKE

```

Abbildung 4/1  
SEQ ID No.: 4

## DNA-Sequenz:

```
1  ATGAGGGGCT CCGATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCCTGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCC ACCAGTGGGC CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGCCAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCCGTT GGATACAGAA TAGTGAAAGA
951 CCTGGTGGAA TTTGAAAAAC TCATAGAGAA ACTGAGAGAA TCCCCTTCGT
1001 TCGCCATAGA TCTTGAGACG TCTTCCCTCG ATCCTTTCGA CTGCGACATT
1051 GTCGGTATCT CTGTGTCTTT CAAACCAAAG GAAGCGTACT ACATACCACT
1101 CCATCATAGA AACGCCCAGA ACCTGGATGA AAAAGAAGTT CTGAAAAGC
1151 TAAAAGAAAT CCTGGAGGAC CCCGGAGCAA AGATCGTTGG TCAGAATTTG
1201 AAATTGATT ACAAGGTGTT GATGGTAAAG GGTGTGAAC CTGTCCCTCC
1251 TCACTTCGAC ACGATGATAG CGGCTTACCT TCTTGAGCCG AACGAAAAGA
1301 AGTTCAATCT GGACGATCTC GCATTGAAAT TTCTTGATA CAAATGACC
1351 TCTTACCAGG AACTCATGTC CTCTCTTCT CCGCTGTTTG GTTTCAGTTT
1401 TGCCGATGTT CCTGTAGAAA AAGCAGCGAA CTATTCCGTG GAAGATGCAG
1451 ACATCACCTA CAGACTCTAC AAGATCCTGA GCTTAAACT CCACGAGGCA
1501 GATCTGGAGA ACGTGTCTA CAAGATAGAA ATGCCTCTTG TGAGCGTGCT
1551 TGCACGGATG GAACTGAACG GTGTGCGCCT GGACGTGGCC TATCTCAGGG
1601 CCTTGTCCTT GGAGGTGGCC GAGGAGATCG CCCGCCTCGA GGCCGAGGTC
1651 TTCCGCCTGG CCGGCCACCC CTTCAACCTC AACTCCCGGG ACCAGCTGGA
1701 AAGGGTCTTC TTTGACGAGC TAGGGCTTCC CGCCATCGGC AAGACGGAGA
1751 AGACCGGCAA GCGCTCTACC AGCGCCGCCG TCCTGGAGGC CCTCCGCGAG
1801 GCCCACCCCA TCGTGGAGAA GATCCTGCAG TACCGGGAGC TCACCAAGCT
1851 GAAGAGCACC TACATTGACC CCTTGCCGGA CCTCATCCAC CCCAGGACGG
1901 GCCGCCTCCA CACCCGCTTC AACCAGACGG CCACGGCCAC GGGCAGGCTA
1951 AGTAGCTCCG ATCCCAACCT CCAGAACATC CCCGTCCGCA CCCCCTTGG
2001 GCAGAGGATC CGCCGGGCCT TCATCGCCGA GGAGGGGTGG CTATTGGTGG
2051 CCCTGGACTA TAGCCAGATA GAGCTCAGGG TGCTGGCCCA CCTCTCCGGC
2101 GACGAGAACC TGATCCGGGT CTTCCAGGAG GGGCGGGACA TCCACACGGA
2151 GACCGCCAGC TGGATGTTCC GCGTCCCCCG GGAGGCCGTG GACCCCTGA
2201 TGCGCCGGGC GGCCAAGACC ATCAACTTCG GGGTCTCTA CGGCATGTCTG
2251 GCCCACCACC TCTCCAGGA GCTAGCCATC CCTTACGAGG AGGCCAGGC
2301 CTTCAATTGAG CGTACTTTC AGAGCTTCCC CAAGGTGCGG GCCTGGATTG
2351 AGAAGACCTT GGAGGAGGCG AGGAGGCGGG GGTACGTGGA GACCCTCTTC
2401 GGCCGCCGCC GCTACGTGCC AGACCTAGAG GCGCGGTGA AGAGCGTGCG
2451 GGAGCGCGCC GAGCGCATGG CTTCAACAT GCCGTCCAG GGCACCGCCG
2501 CCGACCTCAT GAAGCTGGCT ATGGTGAAGC TCTTCCCAG GCTGGAGGAA
```

Abbildung 4/2  
SEQ ID No.: 4

```

2551 ATGGGGGCCA GGATGCTCCT TCAGGTCCAC GACGAGCTGG TCCTCGAGGC
2601 CCCAAAAGAG AGGGCGGAGG CCGTGGCCCG GCTGGCCAAG GAGGTCATGG
2651 AGGGGGTGTA TCCCCTGGCC GTGCCCTGG AGGTGGAGGT GGGGATAGGG
2701 GAGGACTGGC TCTCCGCCAA GGAGTGA

```

SEQ ID NO.: 10

Aminosäuresequenz:

```

1  MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL
51  TTSRGEVPQA VYGFAXSLK ALKEDGDAVI VVFDKAPS F RHEAYGGYKA
101 GRAPTPEDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG
151 YEVRIITADK DLYQLSDRI HVLHPEGYLI TPAWLWEKYG LRPDQWADYR
201 ALTGDESDNL PGVKGIGEKT ARKLLEEWGS LEALLKNLDR LKPAIREKIL
251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLLH
301 EFGLLESPPV GYRIVKDIVE FEKLIIEKLRE SPSFAIDLET SSIDPFDCDI
351 VGISVSFKPK EAYYIPLHHR NAQNLDEKEV LKKLKEILED PGAKIVGQNL
401 KFDYKVLNVK GVEPVPPHFD TMIAAYLLEP NEKKFNLDL ALKFLGYKMT
451 SYQELMSFSS PLFGFSFADV PVEKAANYSC EDADITYRLY KILSLKLHEA
501 DLENVFTYKIE MPLVSVLARM ELNGVRLDVA YLRALSLEVA EEIARLEAEV
551 FRLAGHPFNL NSRDQLERVL FDELGLPAIG KTEKTGKRST SAAVLEALRE
601 AHPIVEKILQ YRELTKLKST YIDPLPDLIH PRTGRLHTRF NQTATATGRL
651 SSSDPNLQNI PVRTPLQORI RRAFIAEEGW LLVALDYSQI ELRVLAHLGS
701 DENLIRVFQE GRDIHTETAS WMFGVPREAV DPLMRRAAKT INFGVLYGMS
751 AHRLSQELAI PYEEAQAFIE RYFQSFVKVR AWIEKTLEEG RRRGYVETLF
801 GRRRYVPDLE ARVKSUREAA ERMAFNMPVQ GTAADLMKLA MVKLFPRLEE
851 MGARMLLQVH DELVLEAPKE RAEAVARLAK EVMEGVYPLA VPLEVEVGIG
901 EDWLSAKE

```

Abbildung 5/1  
SEQ ID No.: 5

## DNA-Sequenz:

```

1  ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCCTGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC GACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGCGAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCATCCA GCAGTTGTGG ACATCTTCGA
951 ATACGATATT CCATTTGCAA AGAGATACCT CATCGACAAA GGCCTAATAC
1001 CAATGGAGGG GGAAGAAGAG CTAAGATTTC TTGCCTTCGA TATAGAAACC
1051 CTCTATCACG AAGGAGAAGA GTTTGGAAAA GGCCCAATTA TAATGATTAG
1101 TTATGCAGAT GAAAATGAAG CAAAGGTGAT TACTTGGAAA AACATAGATC
1151 TTCCATACGT TGAGGTTGTA TCAAGCGAGA GAGAGATGAT AAAGAGATTT
1201 CTCAGGATTA TCAGGGAGAA GGATCCTGAC ATTATAGTTA CTTATAATGG
1251 AGACTCATTG GACTTCCCAT ATTTAGCGAA AAGGGCAGAA AAACCTGGGA
1301 TTAAATTAAC CATTGGAAGA GATGGAAGCG AGCCCAAGAT GCAGAGAATA
1351 GGCGATATGA CGGCTGTAGA AGTCAAGGGA AGAATACATT TCGACTTGTA
1401 TCATGTAATA ACAAGGACAA TAAATCTCCC AACATACACA CTAGAGGCTG
1451 TATATGAAGC AATTTTGGGA AAGCCAAAGG AGAAGGTATA CGCCGACGAG
1501 ATAGCAAAAG CCTGGGAAAG TGGAGAGAAC CTTGAGAGAG TTGCCAAATA
1551 CTCGATGGAA GATGCAAAGG CAACTTATGA ACTCGGGAAA GAATTCCTTC
1601 CAATGGAAAT TCAGCTTTCA GAGAGGCTCC TTTGGCTTTA CCGGGAGGTG
1651 GAGAGGCCCC TTTCCGCTGT CCTGGCCAC ATGGAGGCCA CGGGGGTGCG
1701 CCTGGACGTG GCCTATCTCA GGGCCTTGTC CCTGGAGGTG GCCGAGGAGA
1751 TCGCCCGCCT CGAGGCCGAG GTCTTCCGCC TGGCCGGCCA CCCCTTCAAC
1801 CTCAACTCCC GGGACCAGCT GGAAAGGGTC CTCTTTGACG AGCTAGGGCT
1851 TCCCGCCATC GGCAAGACGG AGAAGACCGG CAAGCGCTCC ACCAGCGCCG
1901 CCGTCCTGGA GGCCCTCCGC GAGGCCACC CCATCGTGGA GAAGATCCTG
1951 CAGTACCGGG AGCTACCAA GCTGAAGAGC ACCTACATTG ACCCCTTGCC
2001 GGACCTCATC CACCCAGGA CGGGCCGCCT CCACACCCGC TTCAACCAGA
2051 CGGCCACGGC CACGGGCAGG CTAAGTAGCT CCGATCCCAA CCTCCAGAAC
2101 ATCCCCGTCC GCACCCCGCT TGGGCAGAGG ATCCGCCGGG CCTTCATCGC
2151 CGAGGAGGGG TGGCTATTGG TGGCCCTGGA CTATAGCCAG ATAGAGCTCA
2201 GGGTGCTGGC CCACCTCTCC GGCACGAGA ACCTGATCCG GGTCTTCCAG
2251 GAGGGGCGGG ACATCCACAC GGAGACCGCC AGCTGGATGT TCGGCGTCCC
2301 CCGGGAGGCC GTGGACCCCC TGATGCGCCG GGCGGCCAAG ACCATCAACT
2351 TCGGGGTCCCT CTACGGCATG TCGGCCACC GCCTCTCCCA GGAGCTAGCC
2401 ATCCCTTACG AGGAGGCCCA GGCTTTCATT GAGCGCTACT TTCAGAGCTT
2451 CCCCAGGTG CGGGCCTGGA TTGAGAAGAC CCTGGAGGAG GGCAGGAGGC
2501 GGGGTACGT GGAGACCTC TTCGGCCGCC GCCGCTACGT GCCAGACCTA

```

## Abbildung 5/2

SEQ ID No.: 5

```

2551 GAGGCCCGGG TGAAGAGCGT GCGGGAGGCG GCCGAGCGCA TGGCCTTCAA
2601 CATGCCCGTC CAGGGCACCG CCGCCGACCT CATGAAGCTG GCTATGGTGA
2651 AGCTCTTCCC CAGGCTGGAG GAAATGGGGG CCAGGATGCT CCTTCAGGTC
2701 CACGACGAGC TGGTCCTCGA GGCCCCAAAA GAGAGGGCGG AGGCCGTGGC
2751 CCGGCTGGCC AAGGAGGTCA TGGAGGGGGT GTATCCCCTG GCCGTGCCCC
2801 TGGAGGTGGA GGTGGGGATA GGGGAGGACT GGCTCTCCGC CAAGGAGTGA

```

SEQ ID No.: 11

## Aminosäuresequenz:

```

1  MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL
51  TTSRGEPVQA VYGFAXSLLK ALKEDGDAVI VVFDKAPSF RHEAYGGYKA
101 GRAPTPEDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG
151 YEVRIILTADK DLYQLSDRI HVLHPEGYLI TPAWLWEKYG LRPDQWADYR
201 ALTGDESONL PGVKGIGEKT ARKLLEEWGS LEALLKNLDR LKPAIREKIL
251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLIH
301 EFGLLESPPH AVVDIFEYDI PFAKRYLIDK GLIPMEGEEE LKILAFDIET
351 LYHEGEEFGR GPIIMISYAD ENEAKVITWK NIDLPYVEVV SSEREMIKRF
401 LRIIREKDPD IIVTYNGDSF DFPYLAKRAE KLGIKLTIGR DGSEPKMQRI
451 GDMTAVEVKG RIHFDLYHVI TRTINLPTYT LEAVYEAIFG KPKEKVIAD
501 IAKAWESGEN LERVAKYSME DAKATYELGK EFLPMEIQLS ERLWLRYREV
551 ERPLSAVLAH MEATGVRLDV AYLRLSLEV AEEIARLEAE VFRLAGHPFN
601 LNSRDQLERV LFDELGLPAI GKTEKTGKRS TSAAVLEALR EAHPIVEKIL
651 QYRELTKLKS TYIDPLPLI HPRTGRLHTR FNQTATATGR LSSSDPNLQN
701 IPVRTPLGQR IRRAFIAEEG WLLVALDYSQ IELRVLAHLS GDENLIRVFO
751 EGRDIHTETA SWMFGVPREA VDPLMRRAAK TINFGVLYGM SAHRLSQELA
801 IPYEEAQAFI ERYFQSFPKV RAWIEKTLEE GRRRGYVETL FGRRRYVPDL
851 EARVKSUREA AERMAFNMPV QGTAADLMKL AMVKLFPRLE EMGARMLLQV
901 HDELVLAPK ERAEAVARLA KEVMEGVYPL AVPLEVEVGI GEDWLSAKE*

```

Abbildung 6/1  
SEQ ID No.: 6

## DNA-Sequenz:

```
1   ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCCTCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCCTGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCC ACCAGTGGGC CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCC CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGCGGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGCCAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCGTTAGA GAACATCCAG CAGTTGTGGA
951 CATCTTCGAA TACGATATTC CATTTGCAAA GAGATACCTC ATCGACAAAG
1001 GCCTAATACC AATGGAGGGG GAAGAAGAGC TAAAGATTCT TGCCTTCGAT
1051 ATAGAAACCC TCTATCACGA AGGAGAAGAG TTTGGAAAAG GCCCAATTAT
1101 AATGATTAGT TATGCAGATG AAAATGAAGC AAAGGTGATT ACTTGGAAAA
1151 ACATAGATCT TCCATACGTT GAGGTTGTAT CAAGCGAGAG AGAGATGATA
1201 AAGAGATTTC TCAGGATTAT CAGGGAGAAG GATCCTGACA TTATAGTTAC
1251 TTATAATGGA GACTCATTCC ACTTCCATA TTTAGCGAAA AGGGCAGAAA
1301 AACTTGGGAT TAAATTAACC ATTGGAAGAG ATGGAAGCGA GCCCAAGATG
1351 CAGAGAATAG GCGATATGAC GGCTGTAGAA GTCAAGGGAA GAATACATTT
1401 CGACTTGTAT CATGTAATAA CAAGGACAAT AAATCTCCA ACATACACAC
1451 TAGAGGCTGT ATATGAAGCA ATTTTGGAA AGCCAAAGGA GAAGGTATAC
1501 GCCGACGAGA TAGCAAAAGC CTGGGAAAGT GGAGAGAACC TTGAGAGAGT
1551 TGCCAAATAC TCGATGGAAG ATGCAAAAGC AACTTATGAA CTCGGGAAAG
1601 AATTCCTTCC AATGGAAATT CAGCTTTCAA GATTAGTTGG ACAACCTTTA
1651 TGGGATGTTT CAAGGTCAAG CACAGGGAAC CTTGTAGAGT GGTTCCTTACT
1701 TAGGAAAGCC TACGAAAGAA ACGAAGTAGC TCCAAACAAG CCAAGTGAAG
1751 AGGAGTATCA AAGAAGGCTC AGGGAGAGCT ACACAGGTGG ATTCGTGCGC
1801 CTGGACGTGG CCTATCTCAG GGCTTGTGCC CTGGAGGTGG CCGAGGAGAT
1851 CGCCCGCCTC GAGGCCGAGG TCTTCCGCCT GGCCGGCCAC CCCTTCAACC
1901 TCAACTCCCG GGACCAGCTG GAAAGGGTCC TCTTTGACGA GCTAGGGCTT
1951 CCCGCCATCG GCAAGACGGA GAAGACCGGC AAGCGCTCCA CCAGCGCCGC
2001 CGTCCTGGAG GCCCTCCGCG AGGCCACCC CATCGTGGAG AAGATCCTGC
2051 AGTACCGGGA GCTACCAAG CTGAAGAGCA CCTACATTGA CCCCTTGCCG
2101 GACCTCATCC ACCCCAGGAC GGGCCGCCTC CACACCCGCT TCAACCAGAC
2151 GGCCACGGCC ACGGGCAGGC TAAGTAGCTC CGATCCCAAC CTCCAGAACA
2201 TCCCCGTCCG CACCCCGCTT GGGCAGAGGA TCCGCCGGGC CTTCATCGCC
2251 GAGGAGGGGT GGCTATTGGT GGCCCTGGAC TATAGCCAGA TAGAGCTCAG
2301 GGTGCTGGCC CACCTCTCCG GEGACGAGAA CCTGATCCGG GTCTTCCAGG
2351 AGGGGCGGGA CATCCACACG GAGACCGCCA GCTGGATGTT CGGCGTCCCC
2401 CGGGAGGCCG TGGACCCCTT GATGCGCCGG GCGGCCAAGA CCATCAACTT
2451 CGGGGTCTTC TACGGCATGT CGGCCACCG CCTCTCCAG GAGCTAGCCA
2501 TCCCTTACGA GGAGGCCAG GCCTTCATTG AGCGCTACTT TCAGAGCTTC
```

Abbildung 6/2  
SEQ ID No.: 6

```

2551 CCCAAGGTGC GGGCCTGGAT TGAGAAGACC CTGGAGGAGG GCAGGAGGCG
2601 GGGGTACGTG GAGACCCTCT TCGGCCGCCG CCGCTACGTG CCAGACCTAG
2651 AGGCCCCGGT GAAGAGCGTG CGGGAGGCGG CCGAGCGCAT GGCCTTCAAC
2701 ATGCCCCGTC AGGGCACC GC CCGACCTC ATGAAGCTGG CTATGGTGAA
2751 GCTCTTCCCC AGGCTGGAGG AAATGGGGGC CAGGATGCTC CTTCAGGTCC
2801 ACGACGAGCT GGTCCCTCAG GCCCAAAG AGAGGGCGGA GGCCGTGGCC
2851 CGGCTGGCCA AGGAGGTCAT GGAGGGGGTG TATCCCCTGG CCGTGCCCCT
2901 GGAGGTGGAG GTGGGGATAG GGGAGGACTG GCTCTCCGCC AAGGAGTGA

```

SEQ ID No.: 12

Aminosäuresequenz:

```

1  MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL
51  TTSRGEVQA VYGFAKSLK ALKEDGDAVI VVFDKAPSF RHEAYGGYKA
101 GRAPTPEDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG
151 YEVRIITADK DLYQLLSMRI HVLHPEGYLI TPAWLWEKYG LRPDQWADYR
201 ALTGDESDNL PGVKGIGECT ARKLLEEWGS LEALLKNLDR LKPAIRKIL
251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLH
301 EFGLLESPVR EHPAVVDIFE YDIPFAKRYL IDKGLIPMEG EEELKILAFD
351 IETLYHEGEE FGKGPIMIS YADENEAKVI TWKNIDLPIV EVVSSEREMI
401 KRFLRIIREK DFDIIVTYNG DSFDFFYLAK RAEKLGKILT IGRDGSEPKM
451 QRIQDMTAVE VKGRIHFDLY HVITRTINLP TYTLEAVYEA IFGKPKKQVY
501 ADEIAKAWES GENLERVAKY SMEDAKATYE LGKEFLPMEI QLSRLVGQPL
551 WDVSRSSSTGN LVEWFLLRKA YERNEVAPNK PSEEEYQRRR RESYTGGEVR
601 LDVAYLRALS LEVAEEIARL EAEVFRLAGH PFNLNSRDQL ERVLFDELGL
651 PAIGKTEKTG KRSTSAAVLE ALREAHPIVE KILQYRELTK LKSTYIDPLP
701 DLIHPRTGRL HTRFNQTATA TGRSSSDPN LQNIPTVTP LQRIIRAFIA
751 EEGWLLVALD YSQIELRVLA HLSGDENLIR VFQEGRDIHT ETASWMFGVP
801 REAVDPLMRR AAKTINFGVL YGMSAHLRSQ ELAIPYEEAQ AFIERYFQSF
851 PKVRAWIEKT LEEGRRRGYV ETLFGRRRYV PDLEARVKSV REAAERMAFN
901 MPVQGTADL MKLAMVKLFP RLEEMGARM LQVHDELVL APKERAEEVA
951 RLAKEVMEGV YPLAVPLEVE VGIGEDWLSA KE*

```

Abbildung 7

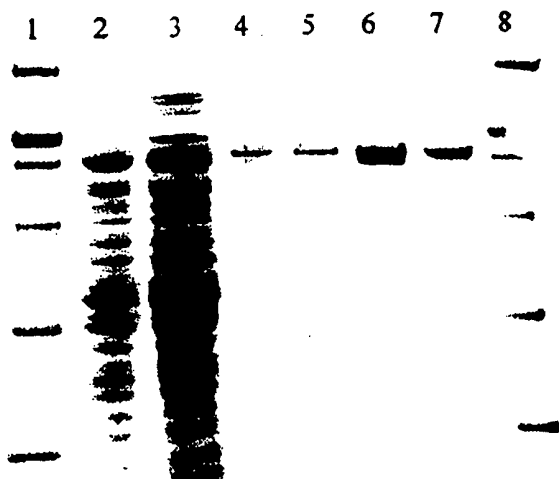




Abbildung 8

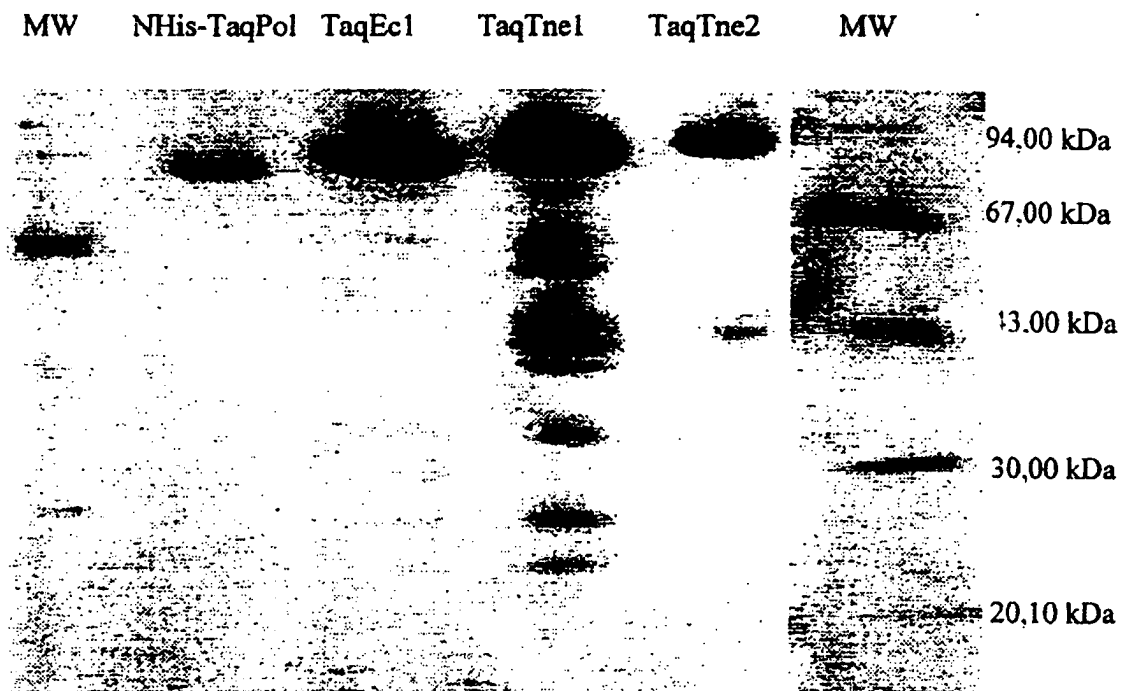


Abbildung 9

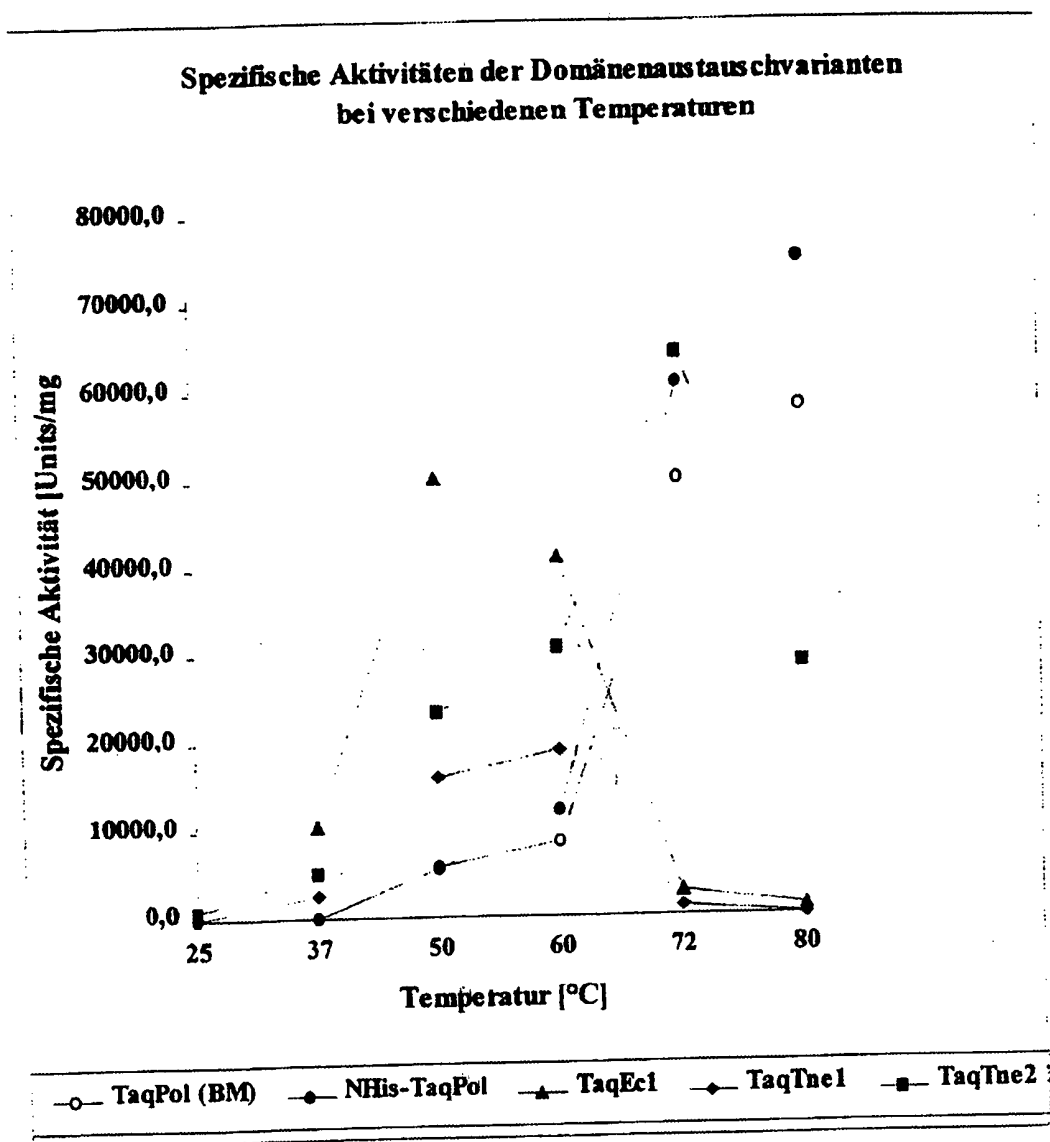


Abbildung 10

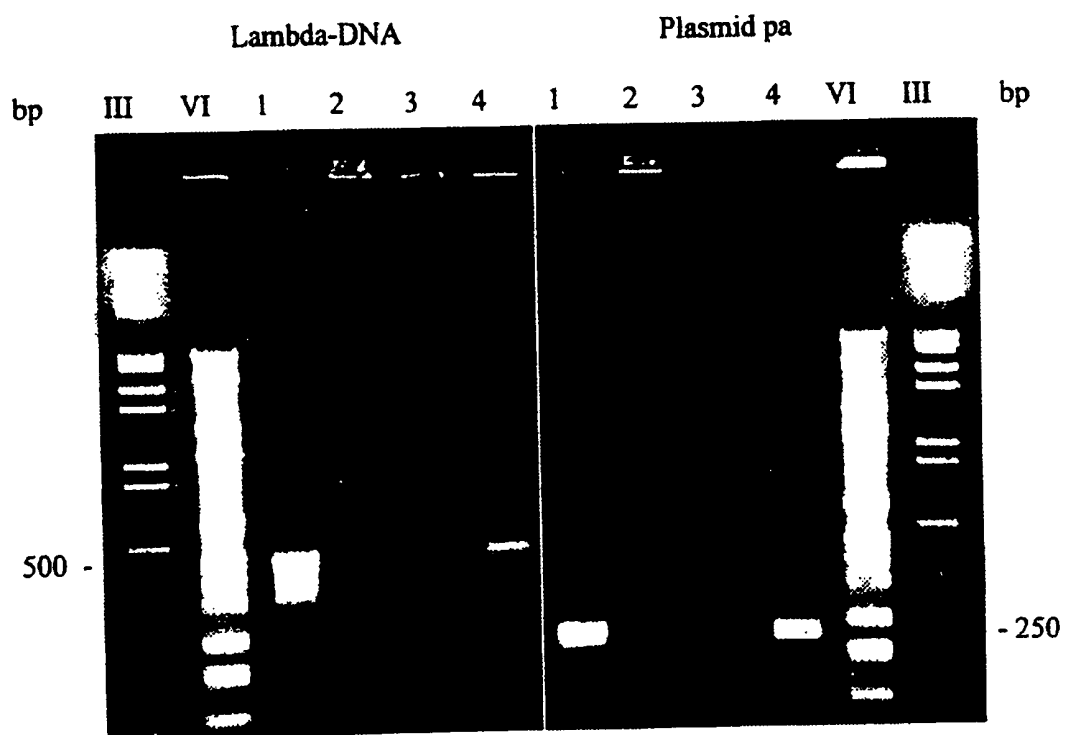


Abbildung 11

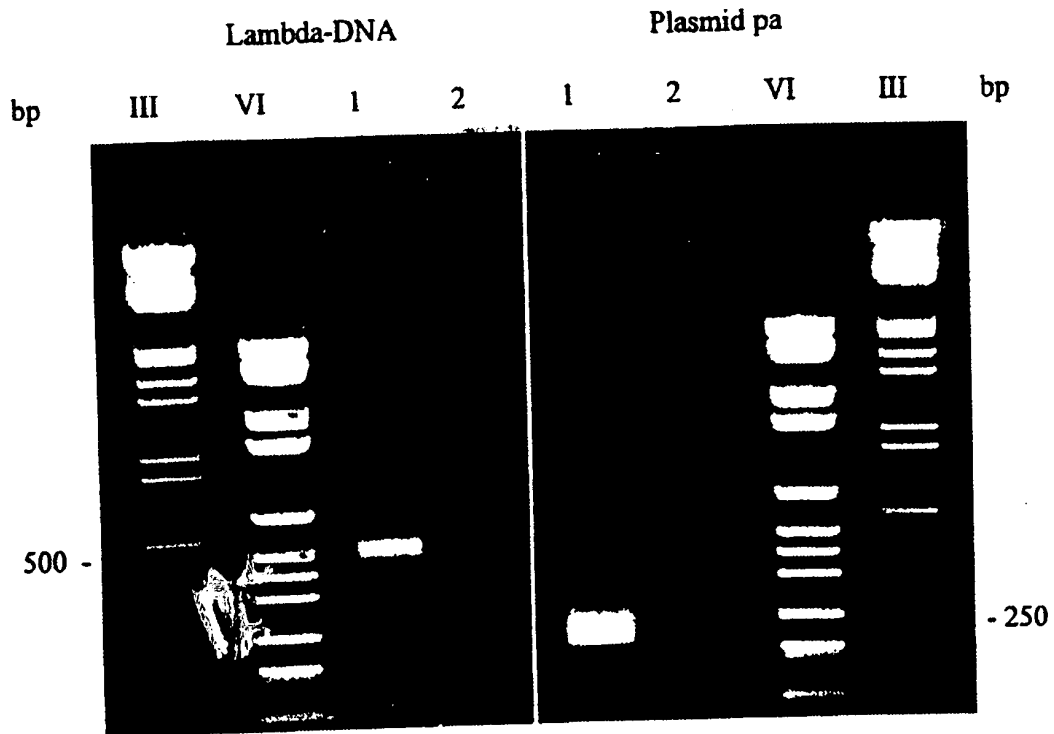




Abbildung 13

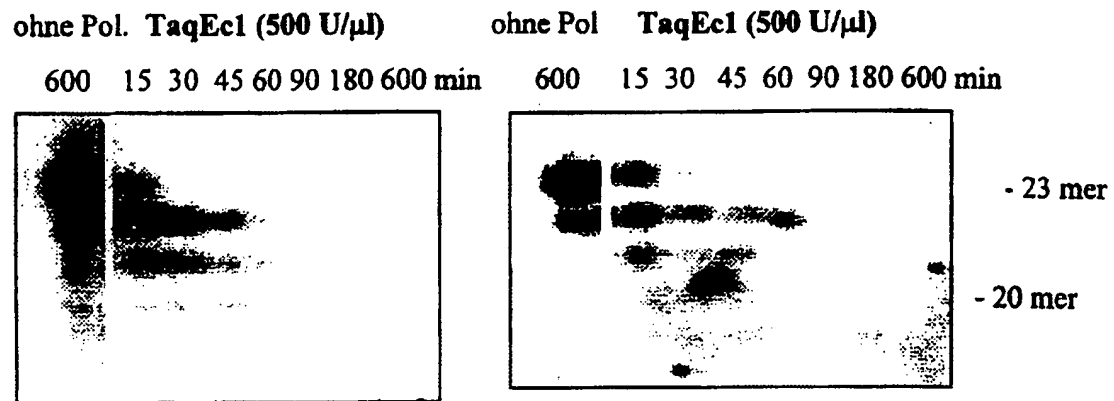


Abbildung 14

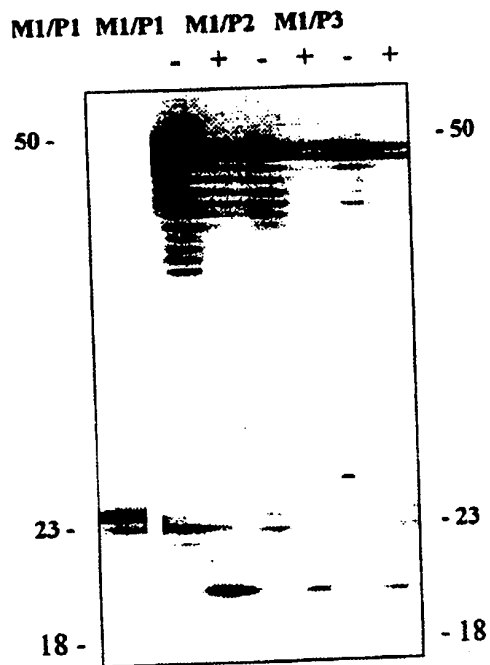


Abbildung 15

Abbau von Primern am 3'-Ende (3'-5' exonuclease assay)  
und  
Korrektur von 3'-mismatched Primern und deren Verlängerung (3'-mismatch primer correction assay)

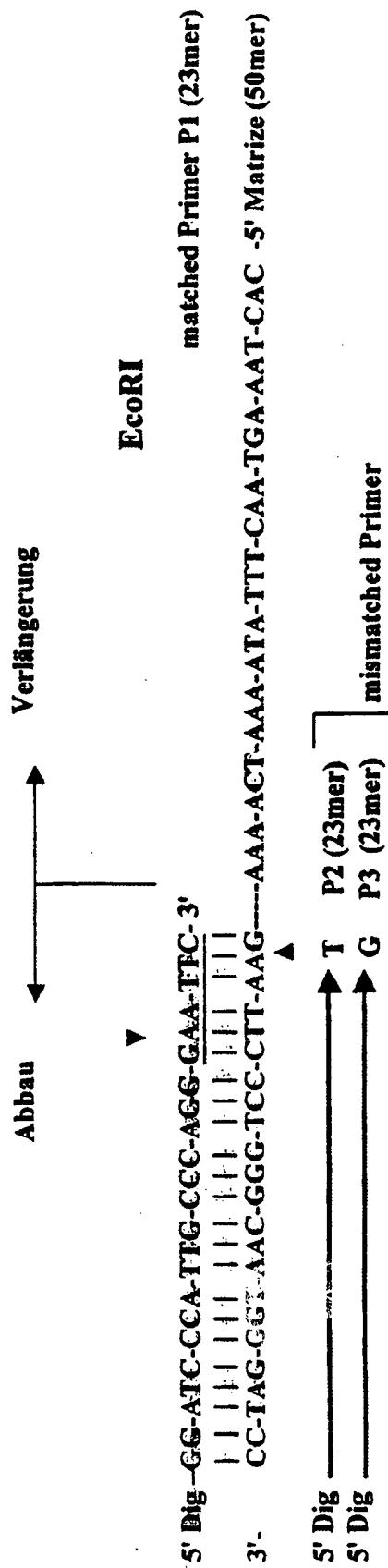
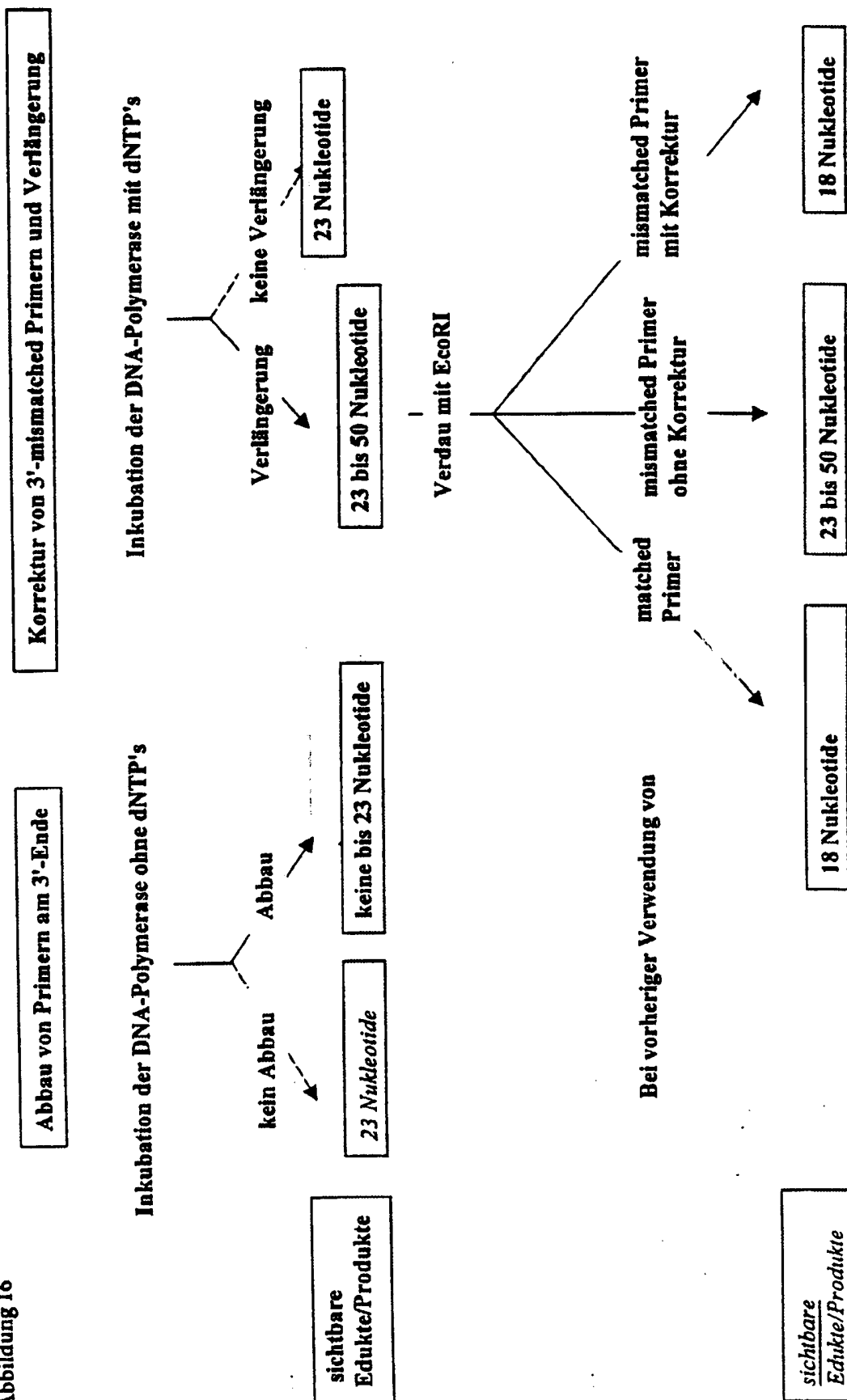




Abbildung 16



SEQ ID No. 43  
SEQ ID No. 44  
SEQ ID No. 45  
SEQ ID No. 46

```

chimera__      SFAIDLETSSLDPFDCDIVGISVSFKPKAEAYIPLHHRNAQNLDEKE--VLKKLKEILE
tne.rse__      SFAIDLETSSLDPFDCDIVGISVSFKPKAEAYIPLHHRNAQNLDEKE--VLKKLKEILE
ath.rse__      VEQKELESISQIRSK--IPLMFVQGEK-CFYLYDQESNTVFITSN-----KLLIEEIL
DPO1_ECOLI     VFAFDTETDSLNDNISANLVGLSFAIEPGVAAYIPVAHDYLDAPDQISRERALELLKPLLE
               *      *                               *      *

```

## Abb. 17/2

chimera\_\_\_\_ DPGAKIVGQNLKFDYKVL MVKGVEPVPPHFDTMIAAYLLEPNEKKFNLDLAL KFLGYKM  
 tne.rse\_\_\_\_ DPGAKIVGQNLKFDYKVL MVKGVEPVPPHFDTMIAAYLLEPNEKKFNLDLAL KFLGYKM  
 ath.rse\_\_\_\_ KSDTVKIMYDLKNIFHQLNLED TNNIKNCEDVMIAASYVLDSTRSSYELET L FVSYLNTDI  
 DPO1\_ECOLI DEKALKVGNLKYDRGILANYGIELRGIAFDTMLESYILNSVAGRHDMSLAERWLKHKT  
 \* \* \* \* \*

chimera\_\_\_\_ TSYQELMSFSSPLFGFSFADVPVEKAANYSCEDADITYRLYKILSLKLHEAD-LENV FYK  
 tne.rse\_\_\_\_ TSYQELMSFSSPLFGFSFADVPVEKAANYSCEDADITYRLYKILSLKLHEAD-LENV FYK  
 ath.rse\_\_\_\_ EAVKKDKKIVS-----VLLKRLWDELLRLIDLNS-CQFLYEN  
 DPO1\_ECOLI ITFEEIAGKGKNQ--LTFNQIALEEAGRYAAEDADVTLQLHLKMWPDLQKHKGPLNVFEN  
 \*

chimera\_\_\_\_ IEMPLVSVLARMELNGVKVDRDALIQYTK EIENKILKLETQIYQIAGEWFNINSPKQLSY  
 tne.rse\_\_\_\_ IEMPLVSVLARMELNGVYDTEFLKKLSEEY GKKLEELAEIYRIAGEPFNINSPKQVSR  
 ath.rse\_\_\_\_ IERPLIPVLYEMEKTGFKVDRDALIQYTK EIENKILKLETQIYQIAGEWFNINSPKQLSY  
 DPO1-ECOLI IEMPLVPVLSRIERNGVKIDPKVLHNHSEELTLRLAELEKKAHEIAGEBFNLSSTKQLQT  
 \* \* \* \* \*

chimera\_\_\_\_ ILFEKLKLPVIKKTGTG--YSTDAEVLEELFDKHEIVPLILDYRMYTKILT TYCQGLLQA  
 tne.rse\_\_\_\_ ILFEKLGIKPRGKTTKTGDYSTRIEVLEELAGEHEIIP LILEYRKIQKLKSTYIDALPKM  
 ath.rse\_\_\_\_ ILFEKLKLPVIKKTGTG--YSTDAEVLEELFDKHEIVPLILDYRMYTKILT TYCQGLLQA  
 DPO1\_ECOLI ILFEKQGIKPLKKTGG-APSTSEEVLEELALDYPLPKVILEYRGLAKLKSTYTDKPLPM  
 \* \* \* \* \*

chimera\_\_\_\_ INPSSGRVHTTFIQGTATGRLASSDPNLQNI PVKYDEGKLIRKVFVPEG-GHVLIDADY  
 tne.rse\_\_\_\_ VNPKTGRIHASFNQTGTATGRLSSSDPNLQNLPTKSEEGKEIRKAIVQDPNWWIVSADY  
 ath.rse\_\_\_\_ INPSSGRVHTTFIQGTATGRLASSDPNLQNI PVKYDEGKLIRKVFVPEG-GHVLIDADY  
 DPO1-ECOLI INPKTGRVHTSYHQA VTATGRLSSTDPNLQNI PVRNEEGRRIRQAFIAPE-DYVIVSADY  
 \* \* \* \* \*

chimera\_\_\_\_ SQIELRILAHISEDERLISAFKNNVDIHSQTAAEVFGVDIADVTPEMRSQAKAVNFGIVY  
 tne.rse\_\_\_\_ SQIELRILAHLSGDENLLRAFE EGIDVHTLTASRIFNVKPEEVTEEMRRAGKMVNF SIIY  
 ath.rse\_\_\_\_ SQIELRILAHISEDERLISAFKNNVDIHSQTAAEVFGVDIADVTPEMRSQAKAVNFGIVY  
 DPO1\_ECOLI SQIELRIMAHLSRDKGLLTAF AEGKDIHRATAAEVFG LPLETVTSEQRRSAKAINFGLIY  
 \* \* \* \* \*

chimera\_\_\_\_ GISDYGLARDIKISRKEAAEFINKYFERYPKVKEYLDNTV KFARDNGFVLTFLNRKRYIK  
 tne.rse\_\_\_\_ GVTPTYGLSVRLGVPVKEAEKMIVNYFVLYPKVRDYIQ RVVSEAKEKGYVRTLFGKRKDIP  
 ath.rse\_\_\_\_ GISDYGLARDIKISRKEAAEFINKYFERYPKVKEYLDNTV KFARDNGFVLTFLNRKRYIK  
 DPO1\_ECOLI GMSAFGLARQLNIPRKEAQKYM DLYFERYPGVLEYMERTRAQAKEQGYVETLDGRRLYLP  
 \* \* \* \* \*

chimera\_\_\_\_ DIKSTNRNLRGYAERIA MNSPIQGSAADIMKLAMIKVYQKLKENNLKSKII LQVHDELLI  
 tne.rse\_\_\_\_ QLMARDRNTQAEGERIAINTPIQGTAA DI IKLAMI EIDRELKERKMRSMIIQVHDEL V F  
 ath.rse\_\_\_\_ DIKSTNRNLRGYAERIA MNSPIQGSAADIMKLAMIKVYQKLKENNLKSKII LQVHDELLI  
 DPO1\_ECOLI DIKSSNGARRAAAERAAINAPMQGTAA DI IKRAMIAVD A WLQAEQPRVRMIMQVHDEL V F  
 \* \* \* \* \*

Abb. 17/3

chimera	_____	EAPYEEKDIVKEIVKREME	NAVALKVPLVVEVKEGLN	WYENKI
tne.rse	_____	EVPNEEKDALVELVKDR	MNTNVVKLSPLEVDVTIG	TWS----
ath.rse	_____	EAPYEEKDIVKEIVKREME	NAVALKVPLVVEVKEGLN	WYENKI
DPO1_ECOLI	_____	EVHKDDVD	AVAKQIHQLMENCTRLD	VPLLVEVGSGENWDQAH-
		* .. *	* .. *	* * * * *

## Abbildung 18/1:

SEQ ID No.: 19

SEQ ID No.: 20

SEQ ID No.: 21

SEQ ID NO.: 22

```

TNE UP 5' CTG ACC ATG GCG AGA CTA TTT CTC TTT G -3'
TNE LOW 5' TCT GTC GAC CTT CAC ACC GTT CAG TTC CAT CC -3'
ATH UP 5' - AAG GTC GAC AGA GAT GCC CTC ATC CAA TAT ACC -3'
ATH LOW 5' - TAG CAA GCT TCT ATT TTG TCT CAT ACC AGT -3'

```

A.

Kreuzungspunkt 1

SEQ ID No.: 23

SEQ ID No.: 24

SEQ ID No.: 25

```

chimera__8 IEMPLVSVLARMELNGV | KVDRDALIQYTKIENKILKLETQIYQIAGEWFNINSPKQLSY
tne.rse__ IEMPLVSVLARMELNGV | YVDTEFLKKLSEYGGKLEELAEIYRIAGEPFNINSPKQVSR
ath.rse__ IERPLIPVLYEMERTGF | KVDRDALIQYTKIENKILKLETQIYQIAGEWFNINSPKQLSY

```

B.

SEQ ID No.: 19

SEQ ID No.: 26

SEQ ID No.: 27

```

5' ctg acc ATG GCG AGA CTA TTT CTC TTT G -3'
TNEUP |----->
      ATG GCG AGA CTA TTT CTC TTT GAT GGA 27
      M A R L F L F D G 9

```

1

SEQ ID No.: 28

SEQ ID No.: 29

SEQ ID No.: 20

SEQ ID No.: 21

SEQ ID No.: 30

SEQ ID No.: 31

```

1512 CGG ATG GAA CTG AAC GGT GTG TAC GTG GAC ACA GAG TTC CTG AAG AAA CTC 1563
505 R M E L N G V Y V D T E F L K K L 521
3'CC CAT CTT GAC TTG CCA CAC ctt Cag cTG TcT 5'
<-----| TNELOW
"Sal I site "
ATHUP |----->
5' AAG Gtc Gac AGA GAT GCC CTC ATC CAA TAT ACC -3'
1387 ATG GAA AAA ACA GGA TTT AAG GTG GAT AGA GAT GCC CTC ATC CAA TAT ACC 1435
463 M E K T G F K V D R D A L I Q Y T 479

```

Abbildung 18/2:

SEQ ID No.: 32

SEQ ID No.: 33

SEQ ID No.: 22

```
2526   GGA CTG AAC TGG TAT GAG ACA AAA TAG           2553
843     G  L  N  W  Y  E  T  K  +
      3' TG ACC ATA CTC TGT TTT ATC ttcgaacgat 5'
      <-----| ATHLOW
```

## Abbildung 19:

SEQ ID No.: 34

SEQ ID No.: 35

SEQ ID No.: 36

Kreuzungspunkt 2

chimera__8	IMEPLVSVLARMELNGVYVDTEFLKKLSEEYGKKLEELAEIYRIAGEPFNINSPKQVS R
tne.rse__	IEMPLVSVLARMELNGVYVDTEFLKKLSEEYGKKLEELAEIYRIAGEPFNINSPKQVS R
ath.rse__	IERPLIPVLYEMEKTGFKVDRDALIQYTKIEIENKILKLETQIYQIAGEWFNINSPKQLS R

A.

TNE Polymerase Nucleotidsequenz 1642-1689

SEQ ID No.: 37

SEQ ID No.: 38

Bam HI site

=====

1642	TCA	CCG	AAG	CAG	GTT	TCA	AGG	ATC	CTT	TTT	GAA	AAA	CTC	GGC	ATA	AAA	1689
348	S	P	K	Q	V	S	R	I	L	F	E	K	L	G	I	K	563

SEQ ID No.: 39

SEQ ID No.: 40

SEQ ID No.: 41

SEQ ID No.: 42

ATH Polymerase Nucleotidsequenz 1513 - 1560

1513	TCA	CCG	AAA	CAG	CTT	TCT	TAC	ATT	TTG	TTT	GAA	AAG	CTA	AAA	CTT	CCT	1560
505	S	P	K	Q	L	S	Y	I	L	F	E	K	L	K	L	P	520

5'CA CCG AAA CAG CTT TCT agg atc cTG TTT GAA AAG CTA AAA CTT CCT G 3'  
 |-----m1----->

.....3'GT GGC TTT GTC GAA AGA tcc tag gAC AAA CTT TTC GAT TTT GAA GGA C 5'  
 <-----m2-----|

B.

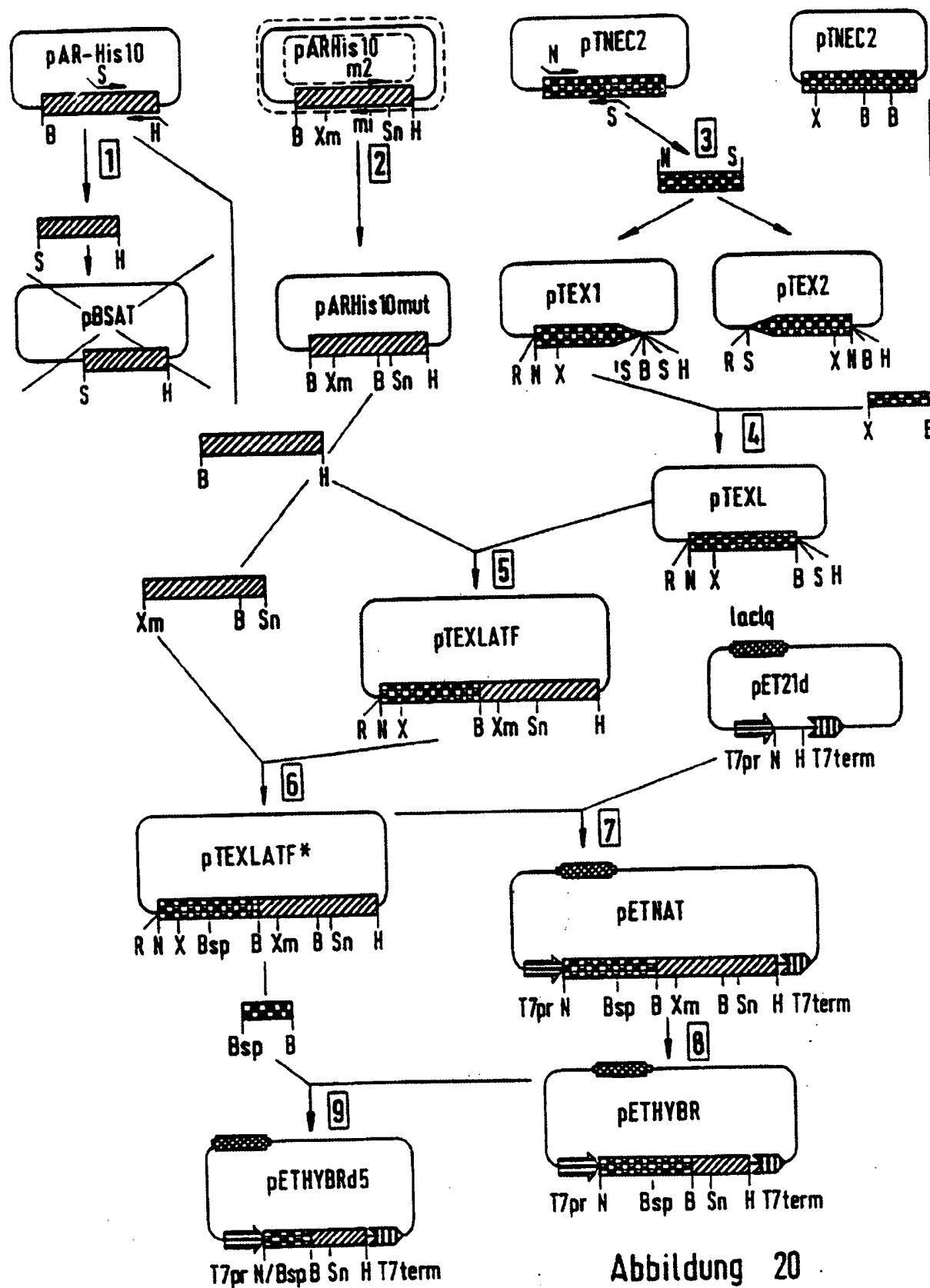


Abbildung 20



Abbildung 21:

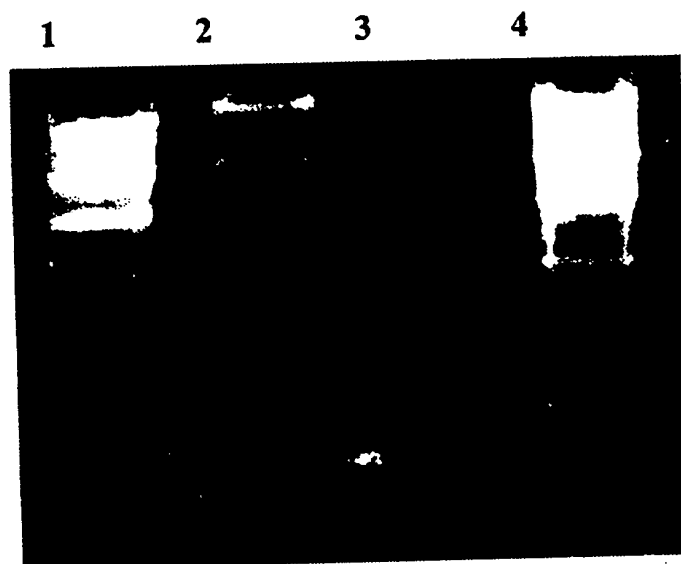
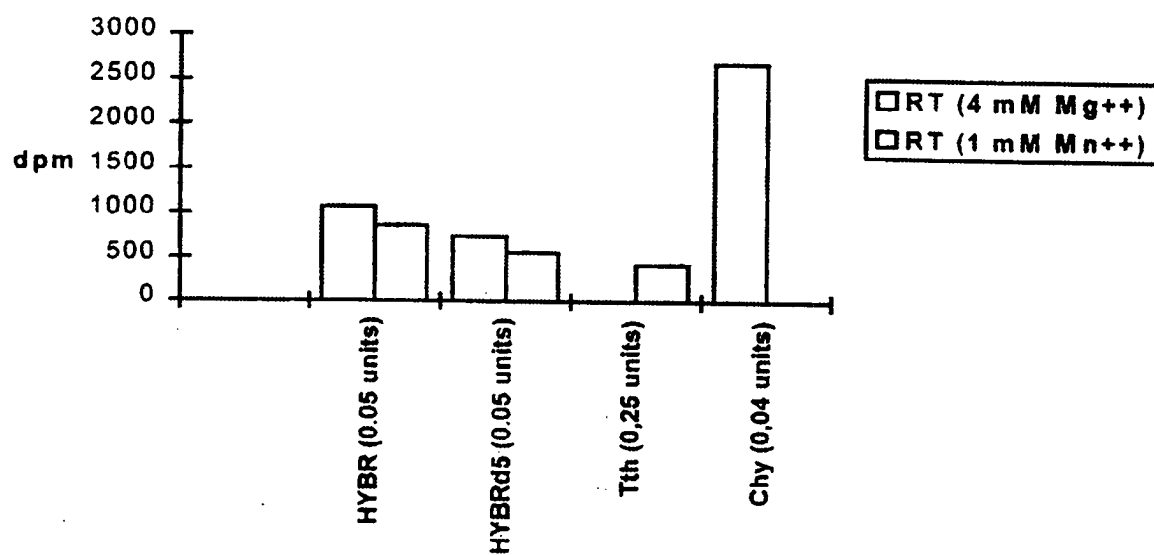


Abbildung 22:

**Vergleich der Reverse-Transcriptase-Aktivität der  
Tne/Ath-Hybridpolymerasen mit Tth- und C.therm.  
Polymerase**



## SEQUENZPROTOKOLL

## (1) ALLGEMEINE ANGABEN:

## (i) ANMELDER:

- (A) NAME: Boehringer Mannheim GmbH
- (B) STRASSE: Sandhoferstr. 116
- (C) ORT: Mannheim
- (E) LAND: DE
- (F) POSTLEITZAHL: 68305
- (G) TELEFON: 06217595482
- (H) TELEFAX: 06217594457

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Polymerasenchimaeren

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 14

## (iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2733 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

```
ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420
```

AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480  
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCTCTC ACCCCGAGGG GTACCTCATC 540  
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600  
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660  
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720  
CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780  
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840  
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900  
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCTATGAC AACTACGTCA CCATCCTTGA TGAAGAAACA 960  
CTGAAAGCGT GGATTGCGAA GCTGGAAAAA GCGCCGGTAT TTGCATTTGA TACCGAAACC 1020  
GACAGCCTTG ATAACATCTC TGCTAACCTG GTCGGGCTTT CTTTGTCTAT CGAGCCAGAG 1080  
GTAGCGGCAT ATATTCCGGT TGCTCATGAT TATCTTGATG CGCCCGATCA AATCTCTCGC 1140  
GAGCGTGCAC TCGAGTTGCT AAAACCGCTG CTGGAAGATG AAAAGGCGCT GAAGGTCCGG 1200  
CAAAACCTGA AATACGATCG CGGTATTCTG GCGAACTACG GCATTGAACT GCGTGGGATT 1260  
GCGTTTGATA CCATGCTGGA GTCCTACATT CTCAATAGCG TTGCCGGGCG TCACGATATG 1320  
GACAGCCTCG CGGAACGTTG GTTGAAGCAC AAAACCATCA CTTTTGAAGA GATTGCTGGT 1380  
AAAGGCAAAA ATCAACTGAC CTTTAACCAG ATTGCCCTCG AAGAAGCCGG ACGTTACGCC 1440  
GCCGAAGATG CAGATGTCAC CTTGCAGTTG CATCTGAAAA TGTGGCCGGA TCTGCAAAAA 1500  
CACGAGAGGC TCCTTTGGCT TTACCGGGAG GTGGAGAGGC CCCTTTCCGC TGTCTGGCC 1560  
CACATGGAGG CCACGGGGGT GCGCCTGGAC GTGGCCTATC TCAGGGCCTT GTCCCTGGAG 1620  
GTGGCCGAGG AGGTCGCCCC CCTCGAGGCC GAGGTCTTCC GCCTGGCCGG CCACCCCTTC 1680  
AACCTCAACT CCCGGGACCA GCTGGAAAGG GTCCTCTTTG ACGAGCTAGG GCTTCCCGCC 1740  
ATCGGCAAGA CGGAGAAGAC CGGCAAGGCG TCCACCAGCG CCGCCGTCCT GGAGGCCCTC 1800  
CGCGAGGCCC ACCCATCGT GGAGAAGATC CTGCAGTACC GGGAGCTCAC CAAGCTGAAG 1860  
AGCACCTACA TTGACCCCTT GCCGGACCTC ATCCACCCCA GGACGGGCCG CCTCCACACC 1920

CGCTTCAACC AGACGGCCAC GGCCACGGGC AGGCTAAGTA GCTCCGATCC CAACCTCCAG 1980  
AACATCCCCG TCCGCACCCC GCTTGGGCAG AGGATCCGCC GGGCCTTCAT CGCCGAGGAG 2040  
GGGTGGCTAT TGGTGGCCCT GGACTATAGC CAGATAGAGC TCAGGGTGCT GGCCACCTC 2100  
TCCGGCGACG AGAACCTGAT CCGGGTCTTC CAGGAGGGGC GGGACATCCA CACGGAGACC 2160  
GCCAGCTGGA TGTTCGGCGT CCCCCGGGAG GCCGTGGACC CCCTGATGCG CCGGGCGGCC 2220  
AAGACCATCA ACTTCGGGGT CCTCTACGGC ATGTCGGCCC ACCGCCTCTC CCAGGAGCTA 2280  
GCCATCCCTT ACGAGGAGGC CCAGGCCTTC ATTGAGCGCT ACTTTCAGAG CTTCCCCAAG 2340  
GTGCGGGCCT GGATTGAGAA GACCCTGGAG GAGGGCAGGA GGCGGGGGTA CGTGGAGACC 2400  
CTCTTCGGCC GCCGCCGCTA CGTGCCAGAC CTAGAGGCC CCGTGAAGAG CGTGCGGGAG 2460  
GCGGCCGAGC GCATGGCCTT CAACATGCCC GTCCAGGGCA CCGCCGCCGA CCTCATGAAG 2520  
CTGGCTATGG TGAAGCTCTT CCCCAGGCTG GAGGAAATGG GGGCCAGGAT GCTCCTTCAG 2580  
GTCCACGACG AGCTGGTCCT CGAGGCCCCA AAAGAGAGGG CGGAGGCCGT GGCCCGGCTG 2640  
GCCAAGGAGG TCATGGAGGG GGTGTATCCC CTGGCCGTGC CCCTGGAGGT GGAGGTGGGG 2700  
ATAGGGGAGG ACTGGCTCTC CGCCAAGGAG TGA 2733

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2733 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60  
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120  
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180  
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240  
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300

GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360  
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420  
AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480  
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC 540  
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCC ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600  
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660  
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720  
CTGAAGCCCC CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780  
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840  
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900  
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCTATGAC AACTACGTCA CCATCCTTGA TGAAGAAACA 960  
CTGAAAGCGT GGATTGCGAA GCTGGAAAAA GCGCCGGTAT TTGCATTGA TACCGAAACC 1020  
GACAGCCTTG ATAACATCTC TGCTAACCTG GTCGGGCTTT CTTTGTCTAT CGAGCCAGGC 1080  
GTAGCGGCAT ATATTCCGGT TGCTCATGAT TATCTTGATG CGCCCGATCA AATCTCTCGC 1140  
GAGCGTGCAC TCGAGTTGCT AAAACCGCTG CTGGAAGATG AAAAGGCGCT GAAGGTCGGG 1200  
CAAAACCTGA AATACGATCG CGGTATTETG GCGAACTACG GCATTGAACT GCGTGGGATT 1260  
GCGTTTGATA CCATGCTGGA GTCCTACATT CTCAATAGCG TTGCCGGGCG TCACGATATG 1320  
GACAGCCTCG CGGAACGTTG GTTGAAGCAC AAAACCATCA CTTTGAAGA GATTGCTGGT 1380  
AAAGGCAAAA ATCAACTGAC CTTTAACCAG ATTGCCCTCG AAGAAGCCGG ACGTTACGCC 1440  
GCCGAAGATG CAGATGTCAC CTTGCAGTTG CATCTGAAAA TGTGGCCGGA TCTGCAAAAA 1500  
CACAAAGGGC CGTTGAACGT CTTGAGAAT ATCGAAATGC CGCTGGTGCC GGTGCTTTCA 1560  
CGCATTGAAC GTAACGGTGT GCGCCTGGAC GTGGCCTATC TCAGGGCCTT GTCCCTGGAG 1620  
GTGGCCGAGG AGATCGCCCC CCTCGAGGCC GAGGTCTTCC GCCTGGCCGG CCACCCCTTC 1680  
AACCTCAACT CCCGGGACCA GCTGGAAGG GTCCTCTTTG ACGAGCTAGG GCTTCCCGCC 1740  
ATCGGCAAGA CGGAGAAGAC CGGCAAGCGC TCCACCAGCG CCGCCGTCCT GGAGGCCCTC 1800

CGCGAGGCCC ACCCCATCGT GGAGAAGATC CTGCAGTACC GGGAGCTCAC CAAGCTGAAG 1860  
 AGCACCTACA TTGACCCCTT GCCGGACCTC ATCCACCCCA GGACGGGCCG CCTCCACACC 1920  
 CGCTTCAACC AGACGGCCAC GGCCACGGGC AGGCTAAGTA GCTCCGATCC CAACCTCCAG 1980  
 AACATCCCCG TCCGCACCCC GCTTGGGCAG AGGATCCGCC GGGCCTTCAT CGCCGAGGAG 2040  
 GGGTGGCTAT TGGTGGCCCT GGA CTATAGC CAGATAGAGC TCAGGGTGCT GGCCACCTC 2100  
 TCCGGCGACG AGAACCTGAT CCGGGTCTTC CAGGAGGGGC GGGACATCCA CACGGAGACC 2160  
 GCCAGCTGGA TGTTCCGGCGT CCCCCGGGAG GCCGTGGACC CCCTGATGCG CCGGGCGGCC 2220  
 AAGACCATCA ACTTCGGGGT CCTCTACGGC ATGTCCGCCC ACCGCCTCTC CCAGGAGCTA 2280  
 GCCATCCCTT ACGAGGAGGC CCAGGCCTTC ATTGAGCGCT ACTTTCAGAG CTTCCCCAAG 2340  
 GTGCGGGCCT GGATTGAGAA GACCCTGGAG GAGGGCAGGA GGCGGGGGTA CGTGGAGACC 2400  
 CTCTTCGGCC GCCGCCGCTA CGTGCCAGAC CTAGAGGCCC GGGTGAAGAG CGTGCGGGAG 2460  
 GCGGCCGAGC GCATGGCCTT CAACATGCCC GTCCAGGGCA CCGCCGCCGA CCTCATGAAG 2520  
 CTGGCTATGG TGAAGCTCTT CCCCAGGCTG GAGGAAATGG GGGCCAGGAT GCTCCTTCAG 2580  
 GTCCACGACG AGCTGGTCCT CGAGGCCCCA AAAGAGAGGG CGGAGGCCGT GGCCCGGCTG 2640  
 GCCAAGGAGG TCATGGAGGG GGTGTATCCC CTGGCCGTGC CCCTGGAGGT GGAGGTGGGG 2700  
 ATAGGGGAGG ACTGGCTCTC CGCCAAGGAG TGA 2733

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2727 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60  
 ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120  
 TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180

GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240  
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300  
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360  
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420  
AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480  
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC 540  
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC GACTACCGG 600  
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660  
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720  
CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780  
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840  
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900  
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCCGTT GGATACAGAA TAGTGAAAGA CCTGGTGGAA 960  
TTTGAAAAAC TCATAGAGAA ACTGAGAGAA TCCCCTTCGT TCGCCATAGA TCTTGAGACG 1020  
TCTTCCCTCG ATCCTTTCGA CTGCGACATT GTCGGTATCT CTGTGTCTTT CAAACCAAAG 1080  
GAAGCGTACT ACATACCACT CCATCATAGA AACGCCCAGA ACCTGGATGA AAAAGAAGTT 1140  
CTGAAAAAGC TAAAAGAAAT CCTGGAGGAC CCCGGAGCAA AGATCGTTGG TCAGAATTTG 1200  
AAATTGATT ACAAGGTGTT GATGGTAAAG GGTGTTGAAC CTGTCCCTCC TCACTTCGAC 1260  
ACGATGATAG CGGCTTACCT TCTTGAGCCG AACGAAAAGA AGTTCAATCT GGACGATCTC 1320  
GCATTGAAAT TTCTTGATA CAAAATGACC TCTTACCAGG AACTCATGTC CTTCTCTTCT 1380  
CCGCTGTTTG GTTTCAGTTT TGCCGATGTT CCTGTAGAAA AAGCAGCGAA CTATTCCTGT 1440  
GAAGATGCCG ACATCACCTA CAGACTCTAC AAGATCCTGA GCTTAAAACT CCACGAGGAG 1500  
AGGCTCCTTT GGCTTTACCG GGAGGTGGAG AGGCCCCTTT CCGCTGTCCT GGCCACATG 1560  
GAGGCCACGG GGGTGCGCCT GGACGTGGCC TATCTCAGGG CTTGTCCCT GGAGGTGGCC 1620  
GAGGAGATCG CCCGCCTCGA GGCCGAGGTC TTCCGCTGG CCGGCCACCC CTTCAACCTC 1680



AACTCCCGGG ACCAGCTGGA AAGGGTCCTC TTTGACGAGC TAGGGCTTCC CGCCATCGGC 1740  
 AAGACGGAGA AGACCGGCAA GCGCTCCACC AGCGCCGCCG TCCTGGAGGC CCTCCGCGAG 1800  
 GCCCACCCCA TCGTGGAGAA GATCCTGCAG TACCGGGAGC TCACCAAGCT GAAGAGCACC 1860  
 TACATTGACC CCTTGCCGGA CCTCATCCAC CCCAGGACGG GCCGCCTCCA CACCCGCTTC 1920  
 AACCAGACGG CCACGGCCAC GGGCAGGCTA AGTAGCTCCG ATCCCAACCT CCAGAACATC 1980  
 CCCGTCCGCA CCCCCTTGG GCAGAGGATC CGCCGGGCCT TCATCGCCGA GGAGGGGTGG 2040  
 CTATTGGTGG CCCTGGACTA TAGCCAGATA GAGCTCAGGG TGCTGGCCCA CCTCTCCGGC 2100  
 GACGAGAACC TGATCCGGGT CTTCCAGGAG GGGCGGGACA TCCACACGGA GACCGCCAGC 2160  
 TGGATGTTTC GCGTCCCCCG GGAGGCCGTG GACCCCCTGA TGCGCCGGGC GGCCAAGACC 2220  
 ATCAACTTCG GGGTCCTCTA CGGCATGTCG GCCCACC GCC TCTCCCAGGA GCTAGCCATC 2280  
 CCTTACGAGG AGGCCCAGGC CTTTATTGAG CGCTACTTTC AGAGCTTCCC CAAGGTGCGG 2340  
 GCCTGGATTG AGAAGACCCT GGAGGAGGGC AGGAGGCGGG GGTACGTGGA GACCCTCTTC 2400  
 GGCCGCCGCC GCTACGTGCC AGACCTAGAG GCCCGGGTGA AGAGCGTGCG GGAGGCGGCC 2460  
 GAGCGCATGG CCTTCAACAT GCCCGTCCAG GGCACGCGCG CCGACCTCAT GAAGCTGGCT 2520  
 ATGGTGAAGC TCTTCCCCAG GCTGGAGGAA ATGGGGGCCA GGATGCTCCT TCAGGTCCAC 2580  
 GACGAGCTGG TCCTCGAGGC CCCAAAAGAG AGGGCGGAGG CCGTGGCCCG GCTGGCCAAG 2640  
 GAGGTCATGG AGGGGGTGTA TCCCCTGGCC GTGCCCCTGG AGGTGGAGGT GGGGATAGGG 2700  
 GAGGACTGGC TCTCCGCCAA GGAGTGA 2727

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2727 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60

ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120  
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180  
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240  
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300  
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360  
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420  
AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480  
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACCTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC 540  
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600  
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660  
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720  
CTGAAGCCCC CCATCCGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780  
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840  
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900  
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCCGTT GGATACAGAA TAGTGAAAGA CCTGGTGGAA 960  
TTTGAAAAAC TCATAGAGAA ACTGAGAGAA TCCCCTTCGT TCGCCATAGA TCTTGAGACG 1020  
TCTTCCCTCG ATCCTTTCGA CTGCGACATT GTCGGTATCT CTGTGTCTTT CAAACCAAAG 1080  
GAAGCGTACT ACATACCACT CCATCATAGA AACGCCCAGA ACCTGGATGA AAAAGAAGTT 1140  
CTGAAAAAGC TAAAAGAAAT CCTGGAGGAC CCCGGAGCAA AGATCGTTGG TCAGAATTTG 1200  
AAATTCGATT ACAAGGTGTT GATGGTAAAG GGTGTTGAAC CTGTCCCTCC TCACTTCGAC 1260  
ACGATGATAG CGGCTTACCT TCTTGAGCCG AACGAAAAGA AGTTCAATCT GGACGATCTC 1320  
GCATTGAAAT TTCTTGATA CAAATGACC TCTTACCAGG AACTCATGTC CTTCTCTTCT 1380  
CCGCTGTTTG GTTTCAGTTT TGCCGATGTT CCTGTAGAAA AAGCAGCGAA CTATTCCTGT 1440  
GAAGATGCAG ACATCACCTA CAGACTCTAC AAGATCCTGA GCTTAAAACT CCACGAGGCA 1500  
GATCTGGAGA ACGTGTCTA CAAGATAGAA ATGCCTCTTG TGAGCGTGCT TGCACGGATG 1560

GAAGTGAACG GTGTGCGCCT GGACGTGGCC TATCTCAGGG CCTTGTCCCT GGAGGTGGCC 1620  
GAGGAGATCG CCCGCCTCGA GGCCGAGGTC TTCCGCCTGG CCGGCCACCC CTTCAACCTC 1680  
AACTCCCGGG ACCAGCTGGA AAGGGTCCTC TTTGACGAGC TAGGGCTTCC CGCCATCGGC 1740  
AAGACGGAGA AGACCGGCAA GCGCTCTACC AGCGCCGCCG TCCTGGAGGC CCTCCGCGAG 1800  
GCCACCCCA TCGTGGAGAA GATCCTGCAG TACCGGGAGC TCACCAAGCT GAAGAGCACC 1860  
TACATTGACC CCTTGCCGGA CCTCATCCAC CCCAGGACGG GCCGCCTCCA CACCCGCTTC 1920  
AACCAGACGG CCACGGCCAC GGGCAGGCTA AGTAGCTCCG ATCCCAACCT CCAGAACATC 1980  
CCCGTCCGCA CCCCCTTGG GCAGAGGATC CGCCGGGCCT TCATCGCCGA GGAGGGGTGG 2040  
CTATTGGTGG CCCTGGACTA TAGCCAGATA GAGCTCAGGG TGCTGGCCCA CCTCTCCGGC 2100  
GACGAGAACC TGATCCGGGT CTTCCAGGAG GGGCGGGACA TCCACACGGA GACCGCCAGC 2160  
TGGATGTTTC GCGTCCCCCG GGAGGCCGTG GACCCCTGA TCGCCGGGC GGCCAAGACC 2220  
ATCAACTTCG GGGTCCTCTA CGGCACTTCG GCCCACC GCC TCTCCCAGGA GCTAGCCATC 2280  
CCTTACGAGG AGGCCCAGGC CTTATTGAG CGCTACTTTC AGAGCTTCCC CAAGGTGCGG 2340  
GCCTGGATTG AGAAGACCCT GGAGGAGGGC AGGAGGCGGG GGTACGTGGA GACCCTCTTC 2400  
GGCCGCCGCC GCTACGTGCC AGACCTAGAG GCCCGGTGA AGAGCGTGCG GGAGGCGGCC 2460  
GAGCGCATGG CCTTCAACAT GCCCGTCCAG GGCACGCCG CCGACCTCAT GAAGCTGGCT 2520  
ATGGTGAAGC TCTTCCCCAG GCTGGAGGAA ATGGGGGCCA GGATGCTCCT TCAGGTCCAC 2580  
GACGAGCTGG TCCTCGAGGC CCCAAAAGAG AGGGCGGAGG CCGTGGCCCG GCTGGCCAAG 2640  
GAGGTCATGG AGGGGGTGTA TCCCCTGGCC GTGCCCCTGG AGGTGGAGGT GGGGATAGGG 2700  
GAGGACTGGC TCTCCGCCAA GGAGTGA 2727

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2850 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60  
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120  
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180  
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240  
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300  
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360  
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420  
AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480  
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC 540  
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600  
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660  
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720  
CTGAAGCCCC CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780  
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840  
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CTCCTCCAC 900  
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCATCCA GCAGTTGTGG ACATCTTCGA ATACGATATT 960  
CCATTTGCAA AGAGATACCT CATCGACAAA GGCCTAATAC CAATGGAGGG GGAAGAAGAG 1020  
CTAAAGATTC TTGCCTTCGA TATAGAAACC CTCTATCACG AAGGAGAAGA GTTTGGAAAA 1080  
GGCCCAATTA TAATGATTAG TTATGCAGAT GAAAATGAAG CAAAGGTGAT TACTTGAAAA 1140  
AACATAGATC TTCCATACGT TGAGGTTGTA TCAAGCGAGA GAGAGATGAT AAAGAGATTT 1200  
CTCAGGATTA TCAGGGAGAA GGATCCTGAC ATTATAGTTA CTTATAATGG AGACTCATTC 1260  
GACTTCCCAT ATTTAGCGAA AAGGGCAGAA AAAGTTGGGA TTAAATTAAC CATTGGAAGA 1320  
GATGGAAGCG AGCCCAAGAT GCAGAGAATA GGCGATATGA CGGCTGTAGA AGTCAAGGGA 1380  
AGAATACATT TCGACTTGTA TCATGTAATA ACAAGGACAA TAAATCTCCC AACATACACA 1440

CTAGAGGCTG TATATGAAGC AATTTTGGGA AAGCCAAAGG AGAAGGTATA CGCCGACGAG 1500  
ATAGCAAAAG CCTGGGAAAG TGGAGAGAAC CTTGAGAGAG TTGCCAAATA CTCGATGGAA 1560  
GATGCAAAGG CAACTTATGA ACTCGGGAAA GAATTCCTTC CAATGGAAAT TCAGCTTTCA 1620  
GAGAGGCTCC TTTGGCTTTA CCGGGAGGTG GAGAGGCCCC TTTCCGCTGT CCTGGCCCCAC 1680  
ATGGAGGCCA CGGGGGTGCG CCTGGACGTG GCCTATCTCA GGGCCTTGTC CCTGGAGGTG 1740  
GCCGAGGAGA TCGCCCGCCT CGAGGCCGAG GTCTTCCGCC TGGCCGGCCA CCCCTTCAAC 1800  
CTCAACTCCC GGGACCAGCT GGAAAGGGTC CTCTTTGACG AGCTAGGGCT TCCCGCCATC 1860  
GGCAAGACGG AGAAGACCGG CAAGCGCTCC ACCAGCGCCG CCGTCCTGGA GGCCCTCCGC 1920  
GAGGCCCCACC CCATCGTGGA GAAGATCCTG CAGTACCGGG AGCTCACCAA GCTGAAGAGC 1980  
ACCTACATTG ACCCCTTGCC GGACCTCATC CACCCCAGGA CGGGCCGCCT CCACACCCGC 2040  
TTCAACCAGA CGGCCACGGC CACGGGCAGG CTAAGTAGCT CCGATCCCAA CCTCCAGAAC 2100  
ATCCCCGTCC GCACCCCGCT TGGGCAGAGG ATCCGCCGGG CCTTCATCGC CGAGGAGGGG 2160  
TGGCTATTGG TGGCCCTGGA CTATAGCCAG ATAGAGCTCA GGGTGCTGGC CCACCTCTCC 2220  
GGCGACGAGA ACCTGATCCG GGTCTTCCAG GAGGGGCGGG ACATCCACAC GGAGACCGCC 2280  
AGCTGGATGT TCGGCGTCCC CCGGGAGGCC GTGGACCCCC TGATGCGCCG GGCGGCCAAG 2340  
ACCATCAACT TCGGGGTCCT CTACGGCATG TCGGCCCACC GCCTCTCCCA GGAGCTAGCC 2400  
ATCCCTTACG AGGAGGCCCA GGCCTTCATT GAGCGCTACT TTCAGAGCTT CCCCAGGTG 2460  
CGGGCCTGGA TTGAGAAGAC CCTGGAGGAG GGCAGGAGGC GGGGGTACGT GGAGACCCTC 2520  
TTCGGCCGCC GCCGCTACGT GCCAGACCTA GAGGCCCGGG TGAAGAGCGT GCGGGAGGCG 2580  
GCCGAGCGCA TGGCCTTCAA CATGCCCGTC CAGGGCACCG CCGCCGACCT CATGAAGCTG 2640  
GCTATGGTGA AGCTCTTCCC CAGGCTGGAG GAAATGGGGG CCAGGATGCT CCTTCAGGTC 2700  
CACGACGAGC TGGTCCTCGA GGCCCCAAAA GAGAGGGCGG AGGCCGTGGC CCGGCTGGCC 2760  
AAGGAGGTCA TGGAGGGGGT GTATCCCCTG GCCGTGCCCC TGGAGGTGGA GGTGGGGATA 2820  
GGGGAGGACT GGCTCTCCGC CAAGGAGTGA 2850

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2949 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

```
ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC 60
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC 120
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG 180
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC 240
GTGGTCTTTG AGGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG 300
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG 360
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC 420
AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA 480
GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCTCTC ACCCGAGGG GTACCTCATC 540
ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCC ACCAGTGGGC CGACTACCGG 600
GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG 660
GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG 720
CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG 780
GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG 840
CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC 900
GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCGTTAGA GAACATCCAG CAGTTGTGGA CATCTTCGAA 960
TACGATATTC CATTTGCAA GAGATACCTC ATCGACAAAG GCCTAATACC AATGGAGGGG 1020
GAAGAAGAGC TAAAGATTCT TGCCTTCGAT ATAGAAACCC TCTATCACGA AGGAGAAGAG 1080
TTTGGAAGG GCCCAATTAT AATGATTAGT TATGCAGATG AAAATGAAGC AAAGGTGATT 1140
```

ACTTGGAAAA ACATAGATCT TCCATACGTT GAGGTTGTAT CAAGCGAGAG AGAGATGATA 1200  
AAGAGATTTC TCAGGATTAT CAGGGAGAAG GATCCTGACA TTATAGTTAC TTATAATGGA 1260  
GACTCATTCG ACTTCCCATA TTTAGCGAAA AGGGCAGAAA AACTTGGGAT TAAATTAACC 1320  
ATTGGAAGAG ATGGAAGCGA GCCCAAGATG CAGAGAATAG GCGATATGAC GGCTGTAGAA 1380  
GTCAAGGGAA GAATACATTT CGACTTGTAT CATGTAATAA CAAGGACAAT AAATCTCCCA 1440  
ACATACACAC TAGAGGCTGT ATATGAAGCA ATTTTGGAA AGCCAAAGGA GAAGGTATAC 1500  
GCCGACGAGA TAGCAAAGC CTGGGAAAGT GGAGAGAACC TTGAGAGAGT TGCCAAATAC 1560  
TCGATGGAAG ATGCAAAGGC AACTTATGAA CTCGGGAAAG AATTCCTTCC AATGGAAATT 1620  
CAGCTTTCAA GATTAGTTGG ACAACCTTTA TGGGATGTTT CAAGGTCAAG CACAGGGAAC 1680  
CTTGTAGAGT GGTTCTTACT TAGGAAAGCC TACGAAAGAA ACGAAGTAGC TCCAAACAAG 1740  
CCAAGTGAAG AGGAGTATCA AAGAAGGCTC AGGGAGAGCT ACACAGGTGG ATTCGTGCGC 1800  
CTGGACGTGG CCTATCTCAG GGCCTTGTCC CTGGAGGTGG CCGAGGAGAT CGCCCGCCTC 1860  
GAGGCCGAGG TCTTCCGCCT GGCCGGCCAC CCCTTCAACC TCAACTCCCG GGACCAGCTG 1920  
GAAAGGGTCC TCTTTGACGA GCTAGGGCTT CCCGCCATCG GCAAGACGGA GAAGACCGGC 1980  
AAGCGCTCCA CCAGCGCCGC CGTCCTGGAG GCCCTCCGCG AGGCCACCC CATCGTGGAG 2040  
AAGATCCTGC AGTACCGGGA GCTCACCAAG CTGAAGAGCA CCTACATTGA CCCCTTGCCG 2100  
GACCTCATCC ACCCCAGGAC GGGCCGCCTC CACACCCGCT TCAACCAGAC GGCCACGGCC 2160  
ACGGGCAGGC TAAGTAGCTC CGATCCCAAC CTCCAGAACA TCCCCGTCCG CACCCGCTT 2220  
GGGCAGAGGA TCCGCCGGGC CTTCATCGCC GAGGAGGGGT GGCTATTGGT GGCCCTGGAC 2280  
TATAGCCAGA TAGAGCTCAG GGTGCTGGCC CACCTCTCCG GCGACGAGAA CCTGATCCGG 2340  
GTCTTCAGG AGGGGCGGGA CATCCACACG GAGACCGCCA GCTGATGTT CGGCGTCCCC 2400  
CGGGAGGCCG TGGACCCCT GATGCGCCGG GCGGCAAGA CCATCAACTT CGGGGTCTC 2460  
TACGGCATGT CGGCCACCG CCTCTCCAG GAGCTAGCCA TCCCTTACGA GGAGGCCAG 2520  
GCCTTCATTG AGCGCTACTT TCAGAGCTTC CCCAAGGTGC GGGCCTGGAT TGAGAAGACC 2580  
CTGGAGGAGG GCAGGAGGCG GGGGTACGTG GAGACCCTCT TCGGCCGCCG CCGCTAGGTG 2640

CCAGACCTAG AGGCCCGGGT GAAGAGCGTG CGGGAGGCGG CCGAGCGCAT GGCCTTCAAC 2700  
 ATGCCCCGTCC AGGGCACCGC CGCCGACCTC ATGAAGCTGG CTATGGTGAA GCTCTTCCCC 2760  
 AGGCTGGAGG AAATGGGGGC CAGGATGCTC CTTCAGGTCC ACGACGAGCT GGTCTCTCGAG 2820  
 GCCCCAAAAG AGAGGGCGGA GGCCGTGGCC CGGCTGGCCA AGGAGGTCAT GGAGGGGGTG 2880  
 TATCCCCTGG CCGTGCCCCT GGAGGTGGAG GTGGGGATAG GGGAGGACTG GCTCTCCGCC 2940  
 AAGGAGTGA 2949

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 910 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

Met	Arg	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	Ala	Ala	Asp	Asp	Asp	Asp	1	5	10	15
Lys	Met	Arg	Gly	Met	Leu	Pro	Leu	Phe	Glu	Pro	Lys	Gly	Arg	Val	Leu	20	25	30	
Leu	Val	Asp	Gly	His	His	Leu	Ala	Tyr	Arg	Thr	Phe	His	Ala	Leu	Lys	35	40	45	
Gly	Leu	Thr	Thr	Ser	Arg	Gly	Glu	Pro	Val	Gln	Ala	Val	Tyr	Gly	Phe	50	55	60	
Ala	Lys	Ser	Leu	Leu	Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Asp	Gly	Asp	Ala	Val	Ile	65	70	75	80
Val	Val	Phe	Asp	Ala	Lys	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	His	Glu	Ala	Tyr	Gly	85	90	95	
Gly	Tyr	Lys	Ala	Gly	Arg	Ala	Pro	Thr	Pro	Glu	Asp	Phe	Pro	Arg	Gln	100	105	110	
Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Glu	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg	Leu	115	120	125	



Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
 130 135 140

Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
 145 150 155 160

Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu  
 165 170 175

Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg  
 180 185 190

Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp  
 195 200 205

Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu  
 210 215 220

Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg  
 225 230 235 240

Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu  
 245 250 255

Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270

Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285

Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300

Leu Glu Ser Pro Tyr Asp Asn Tyr Val Thr Ile Leu Asp Glu Glu Thr  
 305 310 315 320

Leu Lys Ala Trp Ile Ala Lys Leu Glu Lys Ala Pro Val Phe Ala Phe  
 325 330 335

Asp Thr Glu Thr Asp Ser Leu Asp Asn Ile Ser Ala Asn Leu Val Gly  
 340 345 350

Leu Ser Phe Ala Ile Glu Pro Gly Val Ala Ala Tyr Ile Pro Val Ala  
 355 360 365

His Asp Tyr Leu Asp Ala Pro Asp Gln Ile Ser Arg Glu Arg Ala Leu  
 370 375 380

Glu Leu Leu Lys Pro Leu Leu Glu Asp Glu Lys Ala Leu Lys Val Gly  
 385 390 395 400

Gln Asn Leu Lys Tyr Asp Arg Gly Ile Leu Ala Asn Tyr Gly Ile Glu  
 405 410 415  
 Leu Arg Gly Ile Ala Phe Asp Thr Met Leu Glu Ser Tyr Ile Leu Asn  
 420 425 430  
 Ser Val Ala Gly Arg His Asp Met Asp Ser Leu Ala Glu Arg Trp Leu  
 435 440 445  
 Lys His Lys Thr Ile Thr Phe Glu Glu Ile Ala Gly Lys Gly Lys Asn  
 450 455 460  
 Gln Leu Thr Phe Asn Gln Ile Ala Leu Glu Glu Ala Gly Arg Tyr Ala  
 465 470 475 480  
 Ala Glu Asp Ala Asp Val Thr Leu Gln Leu His Leu Lys Met Trp Pro  
 485 490 495  
 Asp Leu Gln Lys His Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg Glu Val Glu  
 500 505 510  
 Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr Gly Val Arg  
 515 520 525  
 Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu  
 530 535 540  
 Val Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe  
 545 550 555 560  
 Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu  
 565 570 575  
 Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr  
 580 585 590  
 Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile Val Glu  
 595 600 605  
 Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile  
 610 615 620  
 Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu His Thr  
 625 630 635 640  
 Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp  
 645 650 655  
 Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile  
 660 665 670

Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp  
 675 680 685  
 Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly Asp Glu  
 690 695 700  
 Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr  
 705 710 715 720  
 Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro Leu Met  
 725 730 735  
 Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser  
 740 745 750  
 Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln  
 755 760 765  
 Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp  
 770 775 780  
 Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr  
 785 790 795 800  
 Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys  
 805 810 815  
 Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln  
 820 825 830  
 Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro  
 835 840 845  
 Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu  
 850 855 860  
 Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu  
 865 870 875 880  
 Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu  
 885 890 895  
 Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu  
 900 905 910

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 910 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu  
20 25 30

Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys  
35 40 45

Gly Leu Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe  
50 55 60

Ala Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Asp Ala Val Ile  
65 70 75 80

Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Gly  
85 90 95

Gly Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln  
100 105 110

Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Leu Ala Arg Leu  
115 120 125

Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
130 135 140

Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
145 150 155 160

Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu  
165 170 175

Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg  
180 185 190

Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp  
195 200 205

Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu  
 210 215 220  
 Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg  
 225 230 235 240  
 Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu  
 245 250 255  
 Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270  
 Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285  
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300  
 Leu Glu Ser Pro Tyr Asp Asn Tyr Val Thr Ile Leu Asp Glu Glu Thr  
 305 310 315 320  
 Leu Lys Ala Trp Ile Ala Lys Leu Glu Lys Ala Pro Val Phe Ala Phe  
 325 330 335  
 Asp Thr Glu Thr Asp Ser Leu Asp Asn Ile Ser Ala Asn Leu Val Gly  
 340 345 350  
 Leu Ser Phe Ala Ile Glu Pro Gly Val Ala Ala Tyr Ile Pro Val Ala  
 355 360 365  
 His Asp Tyr Leu Asp Ala Pro Asp Gln Ile Ser Arg Glu Arg Ala Leu  
 370 375 380  
 Glu Leu Leu Lys Pro Leu Leu Glu Asp Glu Lys Ala Leu Lys Val Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Asn Leu Lys Tyr Asp Arg Gly Ile Leu Ala Asn Tyr Gly Ile Glu  
 405 410 415  
 Leu Arg Gly Ile Ala Phe Asp Thr Met Leu Glu Ser Tyr Ile Leu Asn  
 420 425 430  
 Ser Val Ala Gly Arg His Asp Met Asp Ser Leu Ala Glu Arg Trp Leu  
 435 440 445  
 Lys His Lys Thr Ile Thr Phe Glu Glu Ile Ala Gly Lys Gly Lys Asn  
 450 455 460  
 Gln Leu Thr Phe Asn Gln Ile Ala Leu Glu Glu Ala Gly Arg Tyr Ala  
 465 470 475 480

Ala Glu Asp Ala Asp Val Thr Leu Gln Leu His Leu Lys Met Trp Pro  
 485 490 495  
 Asp Leu Gln Lys His Lys Gly Pro Leu Asn Val Phe Glu Asn Ile Glu  
 500 505 510  
 Met Pro Leu Val Pro Val Leu Ser Arg Ile Glu Arg Asn Gly Val Arg  
 515 520 525  
 Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu  
 530 535 540  
 Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe  
 545 550 555 560  
 Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu  
 565 570 575  
 Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr  
 580 585 590  
 Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile Val Glu  
 595 600 605  
 Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile  
 610 615 620  
 Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu His Thr  
 625 630 635 640  
 Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp  
 645 650 655  
 Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile  
 660 665 670  
 Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp  
 675 680 685  
 Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly Asp Glu  
 690 695 700  
 Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr  
 705 710 715 720  
 Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro Leu Met  
 725 730 735  
 Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser  
 740 745 750

Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln  
755 760 765

Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp  
770 775 780

Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr  
785 790 795 800

Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys  
805 810 815

Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln  
820 825 830

Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro  
835 840 845

Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu  
850 855 860

Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu  
865 870 875 880

Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu  
885 890 895

Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu  
900 905 910

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 9:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 908 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu  
20 25 30

Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys  
 35 40 45  
 Gly Leu Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe  
 50 55 60  
 Ala Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Asp Ala Val Ile  
 65 70 75 80  
 Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Gly  
 85 90 95  
 Gly Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln  
 100 105 110  
 Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Leu Ala Arg Leu  
 115 120 125  
 Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
 130 135 140  
 Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
 145 150 155 160  
 Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu  
 165 170 175  
 Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg  
 180 185 190  
 Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp  
 195 200 205  
 Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu  
 210 215 220  
 Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg  
 225 230 235 240  
 Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu  
 245 250 255  
 Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270  
 Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285  
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300



Leu Glu Ser Pro Pro Val Gly Tyr Arg Ile Val Lys Asp Leu Val Glu  
 305 310 315 320  
 Phe Glu Lys Leu Ile Glu Lys Leu Arg Glu Ser Pro Ser Phe Ala Ile  
 325 330 335  
 Asp Leu Glu Thr Ser Ser Leu Asp Pro Phe Asp Cys Asp Ile Val Gly  
 340 345 350  
 Ile Ser Val Ser Phe Lys Pro Lys Glu Ala Tyr Tyr Ile Pro Leu His  
 355 360 365  
 His Arg Asn Ala Gln Asn Leu Asp Glu Lys Glu Val Leu Lys Lys Leu  
 370 375 380  
 Lys Glu Ile Leu Glu Asp Pro Gly Ala Lys Ile Val Gly Gln Asn Leu  
 385 390 395 400  
 Lys Phe Asp Tyr Lys Val Leu Met Val Lys Gly Val Glu Pro Val Pro  
 405 410 415  
 Pro His Phe Asp Thr Met Ile Ala Ala Tyr Leu Leu Glu Pro Asn Glu  
 420 425 430  
 Lys Lys Phe Asn Leu Asp Asp Leu Ala Leu Lys Phe Leu Gly Tyr Lys  
 435 440 445  
 Met Thr Ser Tyr Gln Glu Leu Met Ser Phe Ser Ser Pro Leu Phe Gly  
 450 455 460  
 Phe Ser Phe Ala Asp Val Pro Val Glu Lys Ala Ala Asn Tyr Ser Cys  
 465 470 475 480  
 Glu Asp Ala Asp Ile Thr Tyr Arg Leu Tyr Lys Ile Leu Ser Leu Lys  
 485 490 495  
 Leu His Glu Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg Glu Val Glu Arg Pro  
 500 505 510  
 Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr Gly Val Arg Leu Asp  
 515 520 525  
 Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu Ile Ala  
 530 535 540  
 Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe Asn Leu  
 545 550 555 560  
 Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu Gly Leu  
 565 570 575

Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr Ser Ala  
                   580                                  585                                  590

Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile Val Glu Lys Ile  
                   595                                  600                                  605

Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile Asp Pro  
                   610                                  615                                  620

Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu His Thr Arg Phe  
                   625                                  630                                  635                                  640

Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp Pro Asn  
                                   645                                  650                                  655

Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile Arg Arg  
                   660                                  665                                  670

Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp Tyr Ser  
                   675                                  680                                  685

Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly Asp Glu Asn Leu  
                   690                                  695                                  700

Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr Ala Ser  
                   705                                  710                                  715                                  720

Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro Leu Met Arg Arg  
                                   725                                  730                                  735

Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser Ala His  
                   740                                  745                                  750

Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln Ala Phe  
                   755                                  760                                  765

Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp Ile Glu  
                   770                                  775                                  780

Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr Leu Phe  
                   785                                  790                                  795                                  800

Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys Ser Val  
                                   805                                  810                                  815

Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln Gly Thr  
                   820                                  825                                  830

Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro Arg Leu  
                   835                                  840                                  845

Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu Leu Val  
 850 855 860  
 Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu Ala Lys  
 865 870 875 880  
 Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu Val Glu  
 885 890 895  
 Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu  
 900 905

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 10:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 908 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
 1 5 10 15  
 Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu  
 20 25 30  
 Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys  
 35 40 45  
 Gly Leu Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe  
 50 55 60  
 Ala Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Asp Ala Val Ile  
 65 70 75 80  
 Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Gly  
 85 90 95  
 Gly Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln  
 100 105 110  
 Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Leu Ala Arg Leu  
 115 120 125

Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
 130 135 140  
 Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
 145 150 155 160  
 Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu  
 165 170 175  
 Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg  
 180 185 190  
 Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp  
 195 200 205  
 Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu  
 210 215 220  
 Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg  
 225 230 235 240  
 Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu  
 245 250 255  
 Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270  
 Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285  
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300  
 Leu Glu Ser Pro Pro Val Gly Tyr Arg Ile Val Lys Asp Leu Val Glu  
 305 310 315 320  
 Phe Glu Lys Leu Ile Glu Lys Leu Arg Glu Ser Pro Ser Phe Ala Ile  
 325 330 335  
 Asp Leu Glu Thr Ser Ser Leu Asp Pro Phe Asp Cys Asp Ile Val Gly  
 340 345 350  
 Ile Ser Val Ser Phe Lys Pro Lys Glu Ala Tyr Tyr Ile Pro Leu His  
 355 360 365  
 His Arg Asn Ala Gln Asn Leu Asp Glu Lys Glu Val Leu Lys Lys Leu  
 370 375 380  
 Lys Glu Ile Leu Glu Asp Pro Gly Ala Lys Ile Val Gly Gln Asn Leu  
 385 390 395 400

Lys Phe Asp Tyr Lys Val Leu Met Val Lys Gly Val Glu Pro Val Pro  
 405 410 415  
 Pro His Phe Asp Thr Met Ile Ala Ala Tyr Leu Leu Glu Pro Asn Glu  
 420 425 430  
 Lys Lys Phe Asn Leu Asp Asp Leu Ala Leu Lys Phe Leu Gly Tyr Lys  
 435 440 445  
 Met Thr Ser Tyr Gln Glu Leu Met Ser Phe Ser Ser Pro Leu Phe Gly  
 450 455 460  
 Phe Ser Phe Ala Asp Val Pro Val Glu Lys Ala Ala Asn Tyr Ser Cys  
 465 470 475 480  
 Glu Asp Ala Asp Ile Thr Tyr Arg Leu Tyr Lys Ile Leu Ser Leu Lys  
 485 490 495  
 Leu His Glu Ala Asp Leu Glu Asn Val Phe Tyr Lys Ile Glu Met Pro  
 500 505 510  
 Leu Val Ser Val Leu Ala Arg Met Glu Leu Asn Gly Val Arg Leu Asp  
 515 520 525  
 Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu Ile Ala  
 530 535 540  
 Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe Asn Leu  
 545 550 555 560  
 Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu Gly Leu  
 565 570 575  
 Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr Ser Ala  
 580 585 590  
 Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile Val Glu Lys Ile  
 595 600 605  
 Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile Asp Pro  
 610 615 620  
 Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu His Thr Arg Phe  
 625 630 635 640  
 Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp Pro Asn  
 645 650 655  
 Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile Arg Arg  
 660 665 670

Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp Tyr Ser  
 675 680 685

Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly Asp Glu Asn Leu  
 690 695 700

Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr Ala Ser  
 705 710 715 720

Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro Leu Met Arg Arg  
 725 730 735

Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser Ala His  
 740 745 750

Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln Ala Phe  
 755 760 765

Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp Ile Glu  
 770 775 780

Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr Leu Phe  
 785 790 795 800

Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys Ser Val  
 805 810 815

Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln Gly Thr  
 820 825 830

Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro Arg Leu  
 835 840 845

Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu Leu Val  
 850 855 860

Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu Ala Lys  
 865 870 875 880

Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu Val Glu  
 885 890 895

Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu  
 900 905

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 11:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 949 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:

Met	Arg	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	Ala	Ala	Asp	Asp	Asp	Asp	1	5	10	15
Lys	Met	Arg	Gly	Met	Leu	Pro	Leu	Phe	Glu	Pro	Lys	Gly	Arg	Val	Leu	20	25	30	
Leu	Val	Asp	Gly	His	His	Leu	Ala	Tyr	Arg	Thr	Phe	His	Ala	Leu	Lys	35	40	45	
Gly	Leu	Thr	Thr	Ser	Arg	Gly	Glu	Pro	Val	Gln	Ala	Val	Tyr	Gly	Phe	50	55	60	
Ala	Lys	Ser	Leu	Leu	Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Asp	Gly	Asp	Ala	Val	Ile	65	70	75	80
Val	Val	Phe	Asp	Ala	Lys	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	His	Glu	Ala	Tyr	Gly	85	90	95	
Gly	Tyr	Lys	Ala	Gly	Arg	Ala	Pro	Thr	Pro	Glu	Asp	Phe	Pro	Arg	Gln	100	105	110	
Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Glu	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg	Leu	115	120	125	
Glu	Val	Pro	Gly	Tyr	Glu	Ala	Asp	Asp	Val	Leu	Ala	Ser	Leu	Ala	Lys	130	135	140	
Lys	Ala	Glu	Lys	Glu	Gly	Tyr	Glu	Val	Arg	Ile	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	145	150	155	160
Asp	Leu	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg	Ile	His	Val	Leu	His	Pro	Glu	165	170	175	
Gly	Tyr	Leu	Ile	Thr	Pro	Ala	Trp	Leu	Trp	Glu	Lys	Tyr	Gly	Leu	Arg	180	185	190	
Pro	Asp	Gln	Trp	Ala	Asp	Tyr	Arg	Ala	Leu	Thr	Gly	Asp	Glu	Ser	Asp	195	200	205	

Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu  
 210 215 220

Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg  
 225 230 235 240

Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu  
 245 250 255

Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270

Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285

Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300

Leu Glu Ser Pro His Pro Ala Val Val Asp Ile Phe Glu Tyr Asp Ile  
 305 310 315 320

Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile Pro Met Glu  
 325 330 335

Gly Glu Glu Glu Leu Lys Ile Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr Leu Tyr  
 340 345 350

His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Lys Gly Pro Ile Ile Met Ile Ser Tyr  
 355 360 365

Ala Asp Glu Asn Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp Lys Asn Ile Asp Leu  
 370 375 380

Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu Met Ile Lys Arg Phe  
 385 390 395 400

Leu Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Ile Ile Val Thr Tyr Asn  
 405 410 415

Gly Asp Ser Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Ala Lys Arg Ala Glu Lys Leu  
 420 425 430

Gly Ile Lys Leu Thr Ile Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro Lys Met Gln  
 435 440 445

Arg Ile Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Val Lys Gly Arg Ile His Phe  
 450 455 460

Asp Leu Tyr His Val Ile Thr Arg Thr Ile Asn Leu Pro Thr Tyr Thr  
 465 470 475 480



Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys Pro Lys Glu Lys Val  
 485 490 495  
 Tyr Ala Asp Glu Ile Ala Lys Ala Trp Glu Ser Gly Glu Asn Leu Glu  
 500 505 510  
 Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Ala Thr Tyr Glu Leu  
 515 520 525  
 Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ile Gln Leu Ser Glu Arg Leu Leu  
 530 535 540  
 Trp Leu Tyr Arg Glu Val Glu Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His  
 545 550 555 560  
 Met Glu Ala Thr Gly Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu  
 565 570 575  
 Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe  
 580 585 590  
 Arg Leu Ala Gly His Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu  
 595 600 605  
 Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu  
 610 615 620  
 Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg  
 625 630 635 640  
 Glu Ala His Pro Ile Val Glu Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr  
 645 650 655  
 Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro  
 660 665 670  
 Arg Thr Gly Arg Leu His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr  
 675 680 685  
 Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg  
 690 695 700  
 Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly  
 705 710 715 720  
 Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu  
 725 730 735  
 Ala His Leu Ser Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly  
 740 745 750

Arg Asp Ile His Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg  
 755 760 765  
 Glu Ala Val Asp Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe  
 770 775 780  
 Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala  
 785 790 795 800  
 Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser  
 805 810 815  
 Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg  
 820 825 830  
 Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro  
 835 840 845  
 Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met  
 850 855 860  
 Ala Phe Asn Met Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu  
 865 870 875 880  
 Ala Met Val Lys Leu Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met  
 885 890 895  
 Leu Leu Gln Val His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg  
 900 905 910  
 Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr  
 915 920 925  
 Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp  
 930 935 940  
 Leu Ser Ala Lys Glu  
 945

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 12:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 982 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:

Met Arg Gly Ser His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
 1 5 10 15  
 Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu  
 20 25 30  
 Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys  
 35 40 45  
 Gly Leu Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe  
 50 55 60  
 Ala Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Asp Ala Val Ile  
 65 70 75 80  
 Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Gly  
 85 90 95  
 Gly Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln  
 100 105 110  
 Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Leu Ala Arg Leu  
 115 120 125  
 Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
 130 135 140  
 Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
 145 150 155 160  
 Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu  
 165 170 175  
 Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg  
 180 185 190  
 Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp  
 195 200 205  
 Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu  
 210 215 220  
 Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg  
 225 230 235 240  
 Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu  
 245 250 255

Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270  
 Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285  
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300  
 Leu Glu Ser Pro Val Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile Phe Glu  
 305 310 315 320  
 Tyr Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile  
 325 330 335  
 Pro Met Glu Gly Glu Glu Glu Leu Lys Ile Leu Ala Phe Asp Ile Glu  
 340 345 350  
 Thr Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Lys Gly Pro Ile Ile Met  
 355 360 365  
 Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Asn Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp Lys Asn  
 370 375 380  
 Ile Asp Leu Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu Met Ile  
 385 390 395 400  
 Lys Arg Phe Leu Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Ile Ile Val  
 405 410 415  
 Thr Tyr Asn Gly Asp Ser Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Ala Lys Arg Ala  
 420 425 430  
 Glu Lys Leu Gly Ile Lys Leu Thr Ile Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro  
 435 440 445  
 Lys Met Gln Arg Ile Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Val Lys Gly Arg  
 450 455 460  
 Ile His Phe Asp Leu Tyr His Val Ile Thr Arg Thr Ile Asn Leu Pro  
 465 470 475 480  
 Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys Pro Lys  
 485 490 495  
 Glu Lys Val Tyr Ala Asp Glu Ile Ala Lys Ala Trp Glu Ser Gly Glu  
 500 505 510  
 Asn Leu Glu Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Ala Thr  
 515 520 525

Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ile Gln Leu Ser Arg  
 530 535 540  
 Leu Val Gly Gln Pro Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly Asn  
 545 550 555 560  
 Leu Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn Glu Val  
 565 570 575  
 Ala Pro Asn Lys Pro Ser Glu Glu Glu Tyr Gln Arg Arg Leu Arg Glu  
 580 585 590  
 Ser Tyr Thr Gly Gly Phe Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala  
 595 600 605  
 Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val  
 610 615 620  
 Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu  
 625 630 635 640  
 Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr  
 645 650 655  
 Glu Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu  
 660 665 670  
 Arg Glu Ala His Pro Ile Val Glu Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu  
 675 680 685  
 Thr Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His  
 690 695 700  
 Pro Arg Thr Gly Arg Leu His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala  
 705 710 715 720  
 Thr Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val  
 725 730 735  
 Arg Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu  
 740 745 750  
 Gly Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val  
 755 760 765  
 Leu Ala His Leu Ser Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu  
 770 775 780  
 Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro  
 785 790 795 800

Arg	Glu	Ala	Val	Asp	Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	805	810	815
Phe	Gly	Val	Leu	Tyr	Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	820	825	830
Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu	Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	835	840	845
Ser	Phe	Pro	Lys	Val	Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly	850	855	860
Arg	Arg	Arg	Gly	Tyr	Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	865	870	875
Pro	Asp	Leu	Glu	Ala	Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	885	890	895
Met	Ala	Phe	Asn	Met	Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	900	905	910
Leu	Ala	Met	Val	Lys	Leu	Phe	Pro	Arg	Leu	Glu	Glu	Met	Gly	Ala	Arg	915	920	925
Met	Leu	Leu	Gln	Val	His	Asp	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Ala	Pro	Lys	Glu	930	935	940
Arg	Ala	Glu	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Met	Glu	Gly	Val	945	950	955
Tyr	Pro	Leu	Ala	Val	Pro	Leu	Glu	Val	Glu	Val	Gly	Ile	Gly	Glu	Asp	965	970	975
Trp	Leu	Ser	Ala	Lys	Glu											980		

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 13:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 66 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: Sonstige Nucleinsäure

- (A) BESCHREIBUNG: /desc = "oligonucleotide"

## (ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

(B) LAGE:1..66

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

GAA TTC ATG AGG GGC TCG CAT CAC CAT CAC CAT CAC GCT GCT GAC GAT  
48

GAC GAT AAA ATG AGG GGC  
66

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 14:

## (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 20 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 14:

Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

Lys Met Arg Gly  
20

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro
 INTERNATIONAL ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : C12N 15/54, 9/12, 1/21, C12P 19/34, C12Q 1/68	A3	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 99/47649</b>  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 23. September 1999 (23.09.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/01674 (22) Internationales Anmeldedatum: 15. März 1999 (15.03.99)  (30) Prioritätsdaten: 198 10 879.6 13. März 1998 (13.03.98) DE  (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE/DE]; D-68298 Mannheim (DE).  (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): FREY, Bruno [DE/DE]; Hochfeldstrasse 50, D-82377 Penzberg (DE). VILL- BRANDT, Britta [DE/DE]; Fasanenstrasse 19, D-38102 Braunschweig (DE). SCHOMBURG, Dietmar [DE/DE]; Richardstrasse 35, D-50374 Erftstadt (DE). SOBEK, Harald [DE/DE]; Birkenstrasse 29, D-82377 Penzberg (DE). ANKENBAUER, Waltraud [DE/DE]; Oberanger 18, D-82377 Penzberg (DE).  (74) Gemeinsamer Vertreter: ROCHE DIAGNOSTICS GMBH; Patentabteilung, D-68298 Mannheim (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht.  (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenbe- richts: 23. Dezember 1999 (23.12.99)	
(54) Title: POLYMERASE CHIMERAS  (54) Bezeichnung: POLYMERASENCHIMÄREN  (57) Abstract  The invention relates to polymerase chimeras which consist of amino acid fragments representing domains and which combine properties of naturally occurring polymerases which are advantageous with a view to a particular application. The invention surprisingly showed that the domains from the different enzymes are active in the chimera and present a cooperative behaviour. The invention also relates to a method for producing the chimeras provided for in the invention and to their use in the synthesis of nucleic acids, for example during polymerase chain reaction. The invention further relates to a kit which contains the polymerase chimeras provided for in the invention.  (57) Zusammenfassung  Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Polymerasenchimären, die aus Aminosäurefragmenten, die Domänen repräsentieren, bestehen und die – im Hinblick auf eine bestimmte Verwendung – vorteilhafte Eigenschaften von natürlich vorkommenden Polymerasen in sich vereinen. Überraschenderweise konnte gezeigt werden, daß die Domänen aus den unterschiedlichen Enzymen in der Chimäre aktiv sind und ein kooperatives Verhalten zeigen. Weiterhin ist Gegenstand der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Chimären sowie die Verwendung dieser Chimären bei der Synthese von Nukleinsäuren z.B. während der Polymerase-Ketten-Reaktion. Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Kit, der die erfindungsgemäßen Polymerasenchimären enthält.		

\*(Siehe PCT Gazette Nr. 46/1999, "Section II")



# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT 99/01674

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <sup>6</sup>:

IPC6: C12N15/54 C12N9/12 C12N1/21 C12P19/34 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC6: C12N C12P C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	EP 0 892 058 A (HOFFMANN LA ROCHE) 20 January 1999 (20.01.99), the whole document.	1-8, 10, 18-24
X	WO 97 29209 A (HARVARD COLLEGE) 14 August 1997 (14.08.97), the whole document.	1-10, 18-24
X	US 5 466 591 A (GELFAND DAVID H ET AL) 14 November 1995 (14.11.95), column 14.	1-10, 18-24

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
18 August 1999 (18.08.99)

Date of mailing of the international search report  
09 September 1999 (09.09.99)

Name and mailing address of the ISA/  
European Patent Office  
Facsimile No.

Authorized officer  
  
Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 99/01674

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RUI SOUSA ET AL: "SINGLE CRYSTALS OF A CHIMERIC T7/T3 RNA POLYMERASE WITH T3 PROMOTER SPECIFICITY" JOURNAL OF CRYSTAL GROWTH, Bd. 122, Nr. 1 / 04, 2 August 1992 (02.08.92), pages 366-374, XP000306506 ISSN: 0022-0248 the whole document.	1, 3, 24
A	EP 0 482 714 A (EASTMAN KODAK CO) 29 April 1992 (29.04.92), the whole document.	1

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 99/01674

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☒ Claims Nos.: 17  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
**See supplemental sheet Additional Matter PCT/ISA/210**
  
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6 4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

### Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## Continuation of Field I.2

Details of SEQ ID NO: 17 are not cited in the sequence protocol. For this reason, no search could be carried out.

The applicant is therefore advised that Patent Claims laid to inventions for which no international search report was drafted normally cannot be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). Similar to the authority entrusted with the task of carrying out the international preliminary examination, the EPO also does not generally carry out a preliminary examination of subject matter for which no search has been conducted. This is also valid in the case when the Patent Claims have been amended after receipt of the international search report (PCT Article 19), or in the case when the applicant submits new Patent Claims pursuant to the procedure in accordance with PCT Chapter II.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Initial Application No

EP 99/01674

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0892058	A	20-01-1999	CA 2240570 A	09-01-1999
WO 9729209	A	14-08-1997	NONE	
US 5466591	A	14-11-1995	US 5079352 A	07-01-1992
			US 4889818 A	26-12-1989
			US 5322770 A	21-06-1994
			US 5795762 A	18-08-1998
			AT 181106 T	15-06-1999
			AU 691374 B	14-05-1998
			AU 4086896 A	26-04-1996
			AU 663474 B	12-10-1995
			AU 8668891 A	28-04-1992
			CA 2090614 A	29-03-1992
			DE 69131321 D	15-07-1999
			EP 0550687 A	14-07-1993
			EP 0894860 A	03-02-1999
			JP 10004985 A	13-01-1998
			JP 10004965 A	13-01-1998
			JP 10000095 A	06-01-1998
			JP 2709311 B	04-02-1998
			WO 9206200 A	16-04-1992
			US 5405774 A	11-04-1995
			US 5455170 A	03-10-1995
			US 5674738 A	07-10-1997
			AU 658378 B	13-04-1995
			AU 8907791 A	28-04-1992
			CA 2092317 A	29-03-1992
			EP 0550696 A	14-07-1993
			JP 2582980 B	19-02-1997
			JP 6504196 T	19-05-1994
			WO 9206202 A	16-04-1992
			US 5310652 A	10-05-1994
			US 5618703 A	08-04-1997
			US 5641864 A	24-06-1997
			US 5693517 A	02-12-1997
			US 5561058 A	01-10-1996
			AT 135741 T	15-04-1996
			AU 3062989 A	11-08-1989
			AU 632857 B	14-01-1993
			AU 6391090 A	10-01-1991
			DE 68926038 D	25-04-1996
			DE 68926038 T	17-10-1996
			EP 0395736 A	07-11-1990
			HK 166096 A	13-09-1996
			IE 72180 B	26-03-1997
			IL 88923 A	31-07-1995
			JP 2511548 B	26-06-1996
			JP 3502165 T	23-05-1991
			SG 46657 A	20-02-1998
			US 5407800 A	18-04-1995
			WO 8906691 A	27-07-1989
			US 5618711 A	08-04-1997
			US 5789224 A	04-08-1998
EP 0482714	A	29-04-1992	AT 136932 T	15-05-1996
			AU 8469091 A	07-05-1992
			CA 2052827 A	27-04-1992

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

P 99/01674

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0482714 A		CS 9103242 A	13-05-1992
		DE 69118809 D	23-05-1996
		DE 69118809 T	26-09-1996
		DK 482714 T	13-05-1996
		ES 2086479 T	01-07-1996
		JP 2032104 C	19-03-1996
		JP 5130871 A	28-05-1993
		JP 7059195 B	28-06-1995
		KR 9405592 B	21-06-1994
		SG 52453 A	28-09-1998

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internat. nationales Aktenzeichen

T/EP 99/01674

## A. KLASSTIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 C12N15/54 C12N9/12 C12N1/21 C12P19/34 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C12N C12P C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	EP 0 892 058 A (HOFFMANN LA ROCHE) 20. Januar 1999 (1999-01-20) das ganze Dokument	1-8, 10, 18-24
X	WO 97 29209 A (HARVARD COLLEGE) 14. August 1997 (1997-08-14) das ganze Dokument	1-10, 18-24
X	US 5 466 591 A (GELFAND DAVID H ET AL) 14. November 1995 (1995-11-14) Spalte 14	1-10, 18-24
	--- -/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. August 1999

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

09.09.99

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hillenbrand, G



# INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Inter. nales Aktenzeichen

P 99/01674

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>RUI SOUSA ET AL: "SINGLE CRYSTALS OF A CHIMERIC T7/T3 RNA POLYMERASE WITH T3 PROMOTER SPECIFICITY"</p> <p>JOURNAL OF CRYSTAL GROWTH,</p> <p>Bd. 122, Nr. 1 / 04,</p> <p>2. August 1992 (1992-08-02), Seiten 366-374, XP000306506</p> <p>ISSN: 0022-0248</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1,3,24
A	<p>EP 0 482 714 A (EASTMAN KODAK CO)</p> <p>29. April 1992 (1992-04-29)</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>-----</p>	1